

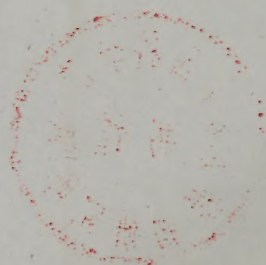


自然科学学科发展战略调研报告

生物化学与 分子生物学

国家自然科学基金委员会

科学出版社



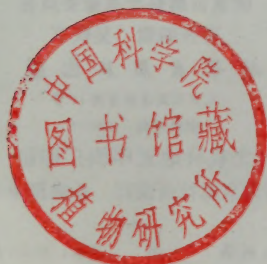
58.173

287

自然科学学科发展战略调研报告

生物化学与分子生物学

国家自然科学基金委员会



科学出版社

1995

26504

(京) 新登字 092 号

内 容 简 介

本书是《自然科学学科发展战略研究报告》之一。这套调研报告是国家自然科学基金委员会邀请有关科学家、信息专家、科技管理专家组成的 50 多个学科发展战略研究组的研究成果。这些成果具有较高的科学性、权威性和较好的可行性,对发展我国科技事业有重要指导意义。

本书简要叙述了生物化学与分子生物学的兴起与发展过程,分析了国际范围内生物化学与分子生物学中一些重要分支领域发展的现状及这门学科总的发展趋势,对我国生物化学与分子生物学研究所取得的成就和水平作了概括和估计。在此基础上提出了发展中国生物化学与分子生物学的战略构想及实现这一构想所需要的战略措施和应采取的政策建议。

本书可供生物化学与分子生物学以及有关学科的科技领导干部、科技管理人员和科技工作者参考,亦可供大专院校有关专业师生阅读参考。

自然科学学科发展战略调研报告

生物化学与分子生物学

国家自然科学基金委员会

责任编辑 吴铁双

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

北京科地亚印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1995 年 12 月第 一 版 开本: 850×1168 1/32

1995 年 12 月第一次印刷 印张: 5 %

印数: 1—2 360 字数: 114 000

ISBN 7-03-004804-0/TB·594

定价: 13.50 元

自然科学学科发展战略调研报告

编辑委员会

顾问	唐敖庆	师昌绪	王 仁		
主任	张存浩				
副主任	陈佳洱				
委员	张存浩	胡兆森	梁栋材	孙 枢	
	陈佳洱	金国藩	王鼎盛	徐光宪	
	吴 旻	钱祥麟	蔡睿贤	许振嘉	
	吴述尧				

生物化学与分子生物学发展战略研究组

- 组 长 顾天爵 教 授 上海医科大学
- 副组长 林其谁 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 组 员 (以姓氏笔画为序)
- 马海官 研 究 员 国家自然科学基金委员会
- 王大成 研 究 员 中国科学院生物物理研究所
- 叶 敏 研 究 员 中国科学院上海细胞生物学研究所
- 吴国利 教 授 北京师范大学
- 杜雨苍 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 杨胜利 研 究 员 中国科学院上海生物工程研究中心
- 陈惠黎 教 授 上海医科大学
- 金由辛 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 荆玉祥 研 究 员 中国科学院植物研究所
- 秦浚川 副 教 授 南京大学
- 戚正武 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 黄仲贤 教 授 复旦大学
- 韩 锐 研 究 员 中国医学科学院药物研究所

生物化学与分子生物学发展战略评审组

- 组 长 杨福愉 中国科学院 中国科学院生物物理研究所
院 士
- 副组长 强伯勤 中国科学院 中国医学科学院基础医学研究所
院 士
- 朱德煦 教 授 南京大学
- 组 员 (以姓氏笔画为序)
- 王镜岩 教 授 北京大学
- 宋后燕 教 授 上海医科大学
- 祁国荣 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 许根俊 中国科学院 中国科学院上海生物化学研究所
院 士
- 陈诗书 教 授 上海第二医科大学
- 严家骥 教 授 武汉大学
- 林政炯 研 究 员 中国科学院生物物理研究所
- 夏其昌 研 究 员 中国科学院上海生物化学研究所
- 龚岳亭 中国科学院 中国科学院上海生物化学研究所
院 士
- 曾仲奎 教 授 四川大学
- 谢毓元 中国科学院 中国科学院上海药物研究所
院 士

自然科学学科发展战略调研报告

《生物化学与分子生物学》编辑部

主 任 陈佳洱

副主任 吴述尧

编 辑 杨正宗 龚 旭 范铁夫 刘兴民

《自然科学学科发展战略调研报告》序

国家自然科学基金委员会的基本任务是：根据国家发展科学技术的方针、政策和规划，遵照科学发展的自身规律，有效地运用科学基金，指导、协调和资助基础研究和部分应用研究工作，发展和培养人才，促进科学技术进步和经济、社会发展。为达到这一目标，正确地选择资助项目和有效地运用资金，是科学基金工作的核心问题，也是学科发展战略研究所要解决的根本问题。

国家自然科学基金委员会的学科发展战略研究大多是以它资助的 56 个学科为基础，对各学科分别设题进行的。研究的内容和任务是：认清各学科发展的国际动态、趋势和前沿，调查国内研究状况、条件和需求，明确各有关学科领域在学科发展和科技、经济、社会发展中的地位、作用和相互影响关系，从而把握学科发展的全局，确定学科发展的中、近期战略目标、重点和优先发展领域，

并对必须采取的重大步骤和措施提出建议。我们希望这一战略研究活动能对科学基金的项目资助工作起到宏观引导作用，特别是对一个时期内资助的重点领域和方向、重点和重大课题的选择起到一定的指导作用，对学科的建设和发展起到学术规划作用，对学科工作人员起到培养作用，对国内其他研究人员和政府决策起到参谋和咨询作用，最终起到促进学科发展的作用。

(一)

国家自然科学基金委员会之所以开展学科发展战略研究，是基于这样一种认识：科学事业既是科学家个人的事业，更是科学家群体共同努力奋斗的事业。

为了促进科学事业的发展，科学基金工作最根本的原则是：尊重并依靠科学家，按科学规律办事；坚持让科学家们根据学科发展的国际动向和国内情况，并结合自己的研究积累和兴趣，自由地选择研究方向和申报课题；在科学家自由申请的基础上，依靠同行科学家群体，做出最佳选择。正是依靠了科学家们无止境的想像力、勇敢的开拓精神和对科学的执著追求，我们才得以不断地推进科学的前沿，开拓科学的新领域。

我们清楚地认识到：在基础科学研究中，为了拓展人类对自然规律的认识，最具意义的是那些科学前沿的新发现。然而，正是这种最前沿的思维和发现，特别是某些

具有突破性的科学进展，开始时常常只是被个别或少数人所洞察，并时而带有偶然的特点，在一段时间内往往难以得到多数人的共识。对这样的研究，显然无从谈预测或计划。相反地，如何创造条件，更好地支持科学家，特别是中青年科学家的这种新思想、新观念、新方法的研究，正是我们自然科学基金工作面临的一项重大任务。

基础科学研究，是科学技术应用开发的源泉和先导。从这个意义上说，基础性研究同科技应用开发有着密切的关系，基础科学不仅要研究自然界的基本规律，而且要解决科技应用开发中的基础科学问题。为了有效地运用基金促进科学事业的繁荣，有必要也有可能把科学家的智慧汇集起来：

——科学发展到今天，学科和学科领域之间的综合交叉在不断扩展和深化，许多最富生命力的新兴边缘学科在不断涌现，知识已经突破传统的学科界线。在任何一个学科都已不能孤立存在和发展的条件下，对学科前沿和发展趋势的判断，对学科领域之间相互作用关系的认识和协调关系的建立，对影响和带动学科发展的重要领域的把握，都需要以更广阔的眼光去观察，这已不是哪一个专业的某个科学家个人力所能及。

——科学活动需要的投入在急剧增加，环境条件对科学研究成果的影响日见显著，任何国家都难以保持在所有科学领域上的全面优势。因此，必须根据学科发展的国际态势并结合国情，选择那些意义重大、力所能及、必

须开拓掌握的领域或方向，作为本国学科发展的优先或重点发展领域，有些给予突破性的重点支持，有些给予持久而稳定的扶持。这一工作，也不是个别科学家所能胜任。

——科学作为技术、经济和社会的一个有机组成部分，已经难以与之互相分离。技术、经济和社会的发展对科学提出了越来越高的要求，科学的发展也更多地需要社会的理解和支持。为了在二者之间建立和谐的相互促进关系，科学除了必须遵循其内在规律外，还必须考虑技术、经济、社会长远发展的需要，树立为之服务的宏远目标。为此，不但需要远见卓识的科学家参与，还需要了解未来需要的许多其他领域的专家参加。

——科学研究的规模在迅速扩大，复杂性日益增强，在不同层次和不同形式上都需要由科学家、工程师和其他辅助人员组成的群体来实现其既定目标。为了开展有条不紊的、高效率的工作，任何这样的群体都应有自己的发展战略作指导。科学的实践表明，科学家个人的思维 and 发现，是科学进步的知识源泉，但只有合理组织起来的科学活动，才能把科学家们的智慧汇合起来，形成大江大河般的排山倒海之势。国家自然科学基金委员会开展学科发展战略研究，就是为了把科学家们的智慧从宏观上更好地汇集起来。

(二)

为了顺利完成学科发展战略研究工作，凡开展研究的学科都成立了专门的研究组，由国内知名的科学家担任组长，并邀请有较高学术水平的专家参加。为了使研究工作具有超脱部门、行业利益的学术权威性，我们做了一系列规定。首先，研究组人员的构成，除必须具有较高的学术权威性外，还要具有代表性；既有老一辈的科学家指导，也有做出贡献的中青年学者参加；既要以前线学术研究人员为主，还吸收少量专业情报研究人员和学术管理人员参加；既以中国科学院、高等院校和产业部门研究所的科学家为主，必要时还吸收少量其他单位的专家参加。其次，我们要求研究组随时注意以书面或座谈会方式听取国内各界专家的意见。第三，对研究组反复讨论修改后拟定的调研报告初稿，必须经专家评审组的认真评议认可，必要时，应进行再次修改补充。评审组由国家自然科学基金委员会邀请各方界有代表性的权威科学家组成。

由此可见，我们的学科发展战略调研报告不是哪一个部门或哪一个人的作品，而是国内众多科学家集体智慧的结晶，它所提出的战略、目标、优先重点发展领域和措施等，是科学家的共识和预测，而不是行政的干预；是对研究方向或学科领域的引导，而不是对具体研究课题

的设定；是对那些应当特别关注的学术领域方向的强调，而同时还支持其他领域的研究工作（这些研究仍然可能是卓有成效的）。所以，我们希望这一发展战略调研报告系列的出版发行，不但不会限制科学家的自由思维和项目申请，而是会启发和帮助他们更有效地进行思维，使科学研究的宏观指导发挥应有效益。

科学在迅速发展，学科领域在迅速地突破和不断重新组合，学科发展战略研究必须跟上科学发展的步伐，不能一劳永逸。在各学科第一轮研究的基础上，我们将在更高水平上开展新一轮的研究。

(三)

在研究学科发展战略的过程中，正确地处理好几个具体关系，是完成一份高质量调研报告的重要环节。我们始终特别强调的是：

——既要有学术深度，又要有战略高度，既立足于分支学科的深入分析，又超越个别的或自己从事的分支学科，突出横向的交叉综合，避免调研报告成为分支学科报告的汇集，面面俱到，没有重点，以达到把握学科全局的高度。

——在确定战略方向和优先领域时，既要考虑国际学科前沿情况，更须实事求是，从国情出发，落实在国内。

——既要从科技、经济、社会发展的长远需要提出问

题，更要把它概括深化为学术思想，落实到如何促进学科发展，使其不同于一般行业的技术规划。

——在内容的编排上，必须客观材料和分析并重，以做到根据丰实准确，结论明确具体。

国家自然科学基金资助的 56 个学科，几乎覆盖了自然科学和工程科学的所有领域，而这些学科的特点真可谓千姿百态，迥然不同。因此，对于各学科调研报告的编写方式，除了必须有统一的研究目标、内容和编写体例，要求资料准确、论证科学、观点明确、重点突出、畅达易读、生动活泼外，在风格上提倡百花齐放，不强求统一。调研报告将分期分批出版，我们希望后来者居上，汲取先期调研报告的优点，越做越好。

(四)

国家自然科学基金委员会于 1988 年 6 月决定在全委开展学科发展战略研究以来，已有 50 多个学科开展了研究工作，其中部分调研报告已交付出版，其他学科的调研报告，在今后几年内将陆续安排出版。

业经审批决定出版的报告，都是 3—5 年的研究成果，每一个调研报告都不仅是研究组成员，而且是成百甚至上千学者心血的结晶。在此我们谨向所有参与这一研究工作的学者表示诚挚的感谢。

在这一系列调研报告的编辑出版过程中，得到了有

关部门，特别是科学出版社的大力支持。在此，我们向所有为此做出贡献的朋友表示衷心感谢。

在调研报告出版之际，我们要向以唐敖庆教授为首的国家自然科学基金委员会第一届领导班子表示敬意，是他们发动并领导了这一开创性的工作。我们尤其要向师昌绪教授表示特别的感谢，是他首先倡议并具体指导了这项研究工作。

学科发展战略的研究，不但需要深厚的知识，还需其他方面的广博知识。由于这项工作是首次进行，经验不足，加之经费有限，时间仓促，无论在内容上或编排上都可能会有诸多不尽人意之处，恳盼读者不吝指正。

国家自然科学基金委员会

《自然科学学科发展战略调研报告》编辑委员会

1991年8月1日

前 言

生物化学与分子生物学发展十分迅速，面貌日新月异。这门学科中不断涌现的新知识渗透到生命科学的各个领域，也促进了20世纪生命科学许多激动人心的重大进展，揭示了许多生命现象的奥秘，使人们对生命本质的认识跃进到了一个崭新的阶段，并对人类的物质生产和社会生活产生了重大影响。生物化学与分子生物学已经成为当代生命科学发展的主流。无疑，在今后相当长一段时间内，它仍将是生命科学及至整个自然科学领域内的核心学科之一。

鉴于生物化学与分子生物学在自然科学领域内的重要地位，国家自然科学基金委员会生命科学部原分子生物学与生物物理学学科组认为，应该组织专家调查了解国内外本学科的现状和发展趋势，并以此为基点，研讨发展这门学科的战略目标。这样不但可以为制定基金项目指南提供可靠依据，更可为促进这门学科在我国迅速发展提供科学的指导思想。1988年7月，借生物化学与分子生物学基金项目评议评审之机，组织与会专家进行了学科发展战略研讨，并总结成一份简要的研究报告。虽然当时因种种原

因未发表此报告，但这毕竟是生物化学与分子生物学学科发展战略研究的发端。

根据国家自然科学基金委员会的统一部署，并受生命科学部委托，分子生物学、生物物理与生物医学工程学学科组于1988年底开始筹备生物化学与分子生物学发展战略研究组，分别请上海医科大学顾天爵教授和中国科学院上海生物化学研究所林其谁研究员分别担任研究组的正、副组长，负责物色研究组成员和安排研究日程。两位组长认为：在目前生物化学与分子生物学如此迅速发展的形势下，要描绘出这门学科的发展现状和趋势并提出今后一段时期内的发展战略，任务十分艰巨，唯有集思广益才可能完成。为此，建议成立由该学科分支领域内的15位专家组成战略研究组，共同开展研究。

1989年3月21—22日，研究组于上海召开第一次全体会议。经反复研究讨论，初步确定14个研究专题，即蛋白质、多肽、核酸、分子遗传、基因工程基础、酶、糖复合物、生物膜、激素、免疫生化、病毒生化、分子生物物理、植物化学、无机生化等；确定了各专题负责人；并要求各专题负责人分别邀请各自专题领域的5—10名专家撰写有关内容或提供素材，作为专题研究报告的基础或背景材料。在此后的半年多时间内，先后有近100位专家受邀参与撰写并递交了70份各专题内分支领域的综述报告。1990年3月13—16日在上海召开研究组第二次会议，汇报并讨论了专题报告内容；研究并决定了专题报告的撰写格式及战略研究报告提纲；确定由顾天爵、林其谁两位组长为研究报告的主要撰稿人。

两位主要撰稿人在收到全部专题报告后，在紧张的科研、教学工作同时，利用大量业余时间，做文稿的编纂工作。历时数月，

于1991年6月完成了研究报告初稿。初稿打印分送国内40余位专家征求意见。在回收的33份专家意见中,专家对报告内容基本肯定,同时提出了许多宝贵意见,有的还附寄了详细的补充材料。1991年11月20—21日,研究组和一些特邀专家再次聚会,研究讨论专家意见和修改方案,对初稿进行了较大的修改和增删。1992年12月,《生物化学与分子生物学发展战略调研报告》修改稿完成,交国家自然科学基金委员会审核。

1993年1月10—12日在上海医科大学召开《生物化学与分子生物学发展战略调研报告》评审会。专家评审组15人,组长为杨福愉院士、副组长为强伯勤院士和朱德煦教授。评审组认为:“报告的内容能反映学科的战略地位和国内外目前状况,并在此基础上提出了各分支学科的方向和目标。……报告基本上符合国家自然科学基金委员会对研究报告的编写要求。”同时,评审组专家也指出了其中的不足之处,提出了详细的修改意见。两位主要撰稿人对原稿做了认真修改,并按编辑出版的要求做了改写,至1994年9月完成定稿工作。

从上述过程可知,本报告是研究组和评审组的专家们及全国生物化学与分子生物学界100多位专家集体智慧的产物,它反映了当代本学科的发展趋势及为促进本学科的发展我们应采取的一些对策。诚然,本报告尚不能包括当今本门学科蓬勃发展的全部内容,考虑到与其他学科的交叉,有些领域(如神经分子生物学、物质代谢等)就没有详细介绍,但重要的、发展迅速的生物大分子的结构与功能及有关调控机制等内容,基本上得到了阐述。

在本报告编写过程中,孙册先生参加了部分工作,刘建华、杨天恩、余赛妹等人担任了秘书工作。

由于研究组成员们学识所限,本报告一定存在许多不足或不

当之处，尚祈阅者提出宝贵意见。

国家自然科学基金委员会生命科学部

马海官 杨正宗

1995年10月

目 录

《自然科学学科发展战略调研报告》序

前言

摘要.....	1
1 生物化学与分子生物学的兴起与发展.....	22
1.1 生物化学发展简史.....	22
1.2 分子生物学源于生物化学.....	24
1.3 从分子水平研究生命现象.....	24
1.4 中国早期生物化学的发展.....	25
1.5 生物化学与分子生物学的主要内容.....	26
2 生物化学与分子生物学的发展趋势.....	27
2.1 生命科学的未来与希望.....	27
2.2 高速发展趋势.....	29
3 生物化学与分子生物学的发展与现状.....	30
3.1 蛋白质化学.....	30
3.1.1 蛋白质的三维结构与功能	30
3.1.2 生物活性肽	36

3.1.3	蛋白质与核酸的相互作用	38
3.1.4	多肽工程与蛋白质工程	40
3.2	酶学	42
3.2.1	酶学的两大突破性进展——酶活性 RNA 和抗体酶	43
3.2.2	酶的结构和功能研究	44
3.2.3	固相化酶和生物传感器	44
3.3	核酸化学	46
3.3.1	核酸研究的中心课题	46
3.3.2	核酸研究的新动向	46
3.3.3	核酸的结构	48
3.3.4	DNA 的复制	50
3.3.5	RNA 的转录后加工	52
3.3.6	蛋白质生物合成	54
3.3.7	反义核酸与酶活性 RNA	57
3.4	糖复合物	59
3.4.1	糖复合物的结构	60
3.4.2	糖链的合成代谢与糖苷转移酶	61
3.4.3	糖链的功能	62
3.4.4	凝集素	63
3.5	生物膜	64
3.5.1	生物膜的结构	64
3.5.2	生物膜的功能	65
3.6	激素	65
3.6.1	新肽类激素的发现	66
3.6.2	肽类激素受体结构与功能的研究	66
3.6.3	受体后信息转导机理的研究	68
3.6.4	固醇类激素作用机理的研究	69
3.6.5	激素、生长因子与癌基因关系的研究	71

3.7	分子免疫学	72
3.7.1	免疫球蛋白及其基因	72
3.7.2	T 细胞抗原受体(TCR)复合物	74
3.7.3	组织相容性基因复合物(MHC)及抗原的加工和递呈	75
3.7.4	补体	77
3.7.5	细胞因子	78
3.8	分子遗传学	79
3.8.1	原核生物的分子遗传	79
3.8.2	真核生物的分子遗传	82
3.8.3	细胞质基因组	88
3.8.4	动植物-微生物相互关系的分子遗传	89
3.9	分子病毒学	91
3.9.1	病毒分类和进化的分子生物学原则	92
3.9.2	病毒基因组的表达和调控	93
3.9.3	病毒感染和致病的分子基础	94
3.9.4	病毒与肿瘤	95
3.9.5	病毒基因工程	96
3.9.6	病毒的分子诊断和抗病毒药物设计	97
3.9.7	病毒对宿主细胞代谢的影响	98
3.9.8	分子病毒学的发展趋势	99
3.10	基因工程的基础研究	100
3.10.1	基因克隆和表达系统	100
3.10.2	基因工程相关的基础研究和技术	108
4	我国生物化学与分子生物学现状分析	112
4.1	我国生物化学与分子生物学的成就和水平估计	112
4.2	我国生物化学与分子生物学面临的新任务和新形势	114

摘要

一、研究内容及战略地位

生物化学与分子生物学是生命的化学，是在化学和生物学之间架起的一座桥梁。

有机体从外观看千差万别，种类繁多，但从生物化学与分子生物学角度探究，它们的遗传信息传递、核酸与蛋白质的基本结构与功能几乎完全一致。机体内的生化反应即所谓代谢通路以及催化这些反应的酶的结构和催化性能都十分相似，一些基本反应过程则近于同一模式。这些事实说明，生物品种虽然千千万万，但从分子水平上，从病毒、细菌到人类都是一脉相承。因此，分子水平的研究正是科学地了解生命现象的本质之所在。

分子生物学源于生物化学，至今还是相互

交叉，密不可分。生物化学以有机体内的化学物质为主要研究对象，特别是那些高分子物质如蛋白质、核酸、糖及糖复合物以及脂类等。

自从1953年沃森（Watson）和克里克（Crick）报告DNA双螺旋结构以后，遗传、蛋白质生物合成等生命现象的重大问题，可在分子水平上加以剖析，于是产生了以此为核心理念的分子生物学。但时至今日，分子生物学的含义已大为扩展，成为研究生物高分子的结构与功能以阐明生命现象的一门学科。它包括两大内容：分子遗传学和分子生理学。分子遗传学是从分子水平研究遗传规律以及发生、分化、进化、老化和免疫生物学基本现象；分子生理学是从分子水平研究与剖析生理现象。其中心内容是在分子水平上研究消化、吸收、光合作用、运动、感觉、物质输送、兴奋传导等，研究对象包括细胞器如线粒体、肌肉细胞、神经细胞、细胞膜等等。

生物化学与分子生物学领域虽然很宽，但就其主要内容则可归纳为如下几个方面：

（1）生物分子及其组合体的化学与三维结构的研究，以及结构与功能之间的关系。

（2）蛋白质功能的研究，例如酶促作用，受体识别，分子间专一性结合的分子机理；信息通过受体本身或通过分子间的作用而传递的机理。

（3）基因信息的转录、调控、传代等机理。

（4）生物分子的合成和组装。

（5）细胞分裂和繁殖的生化进程及控制机理。

（6）细胞及组织的生长、分化、衰老的分子基础。

这些基础理论课题的研究成果，已经为工农业生产发展提供

了大量的十分宝贵的资料，例如植物新品种的培育及生物工程疫苗和药物等等，已经成为高科技领域中一项支柱性产业，同时大大促进了对疾病病因的了解，并提高了疾病的诊断与治疗水平。

二、学科间的相互渗透

生物化学与分子生物学是发展十分迅速的学科。它的迅速发展一方面得益于化学、物理学、数学和电子技术、计算技术等理论学科和技术学科的新理论、新技术、新方法向生物学的广泛渗透和应用；另一方面亦由于生物化学和分子生物学的原理和技术向生物学其他领域的广泛渗透。由此而发展产生许多新兴的领域、学科和形成一些高新技术，如分子遗传学、分子病毒学、分子药理学、基因工程、蛋白质工程、酶工程、生物传感器、生物芯片等。这种广泛的渗透仍在不断地十分活跃地进行中。

三、中国早期（1917—1949）生物化学的发展

郑集教授在其专著《中国早期生物化学发展史》中作了详尽综述，书中收集了大量文献资料。该书列出了 33 名中国早期生物化学家，其中有 25 人主要从事或曾从事营养学研究；除此以外，有少数学者从事蛋白质、发酵、代谢、医学生化等研究。中国营养学会早在 1945 年已宣布正式成立，而生物化学会虽在 40 年代后期开始筹办，但到 1978 年才正式宣告诞生。我国老一辈生物化学家曾在营养学上作出过重要贡献。卓越的生物化学家吴宪（1893—1959）在血液分析、蛋白质变性、食物营养和免疫化学四个领域中都作出了重要贡献，而且他还吸收了不少留学归国的学

者和培养了多名生物化学家如刘思职、陈同度等，他堪称为中国生物化学的奠基者。

新中国成立以来的40余年，生物化学与分子生物学研究队伍迅速扩大。目前中国生物化学会会员已达6300人，都具有中级以上职称。在研究中也取得了一批很高水平的成果，如人工合成胰岛素和酵母丙氨酸tRNA等。建立了一批具有国际水平的实验室和研究所。在此，我们不能忘记在建国初期一批留学国外、学有所成的生物化学工作者怀着满腔的爱国热情，回到当时还十分贫困落后的祖国，以他们对科学的执着，撒下了近代生物化学的种子，培养出了一大批人才。目前我国与先进国家相比，队伍尚嫌太小，经费严重不足。相信随着我国经济的发展，我国的生物化学研究一定会呈现出蓬勃生机。

四、生物化学与分子生物学的发展趋势

生物化学与分子生物学虽然只是生命科学中的一个学科，但是它代表了生命科学的未来与希望。回顾本世纪初，生命科学分科十分细，各学科所涉及的领域彼此间界限甚是分明，例如解剖学、细胞学、微生物学、病理学、生理学、药理学等等。它们各有明确的研究领域，运用特定的理论与手段进行研究。但是到了20世纪末期的今天，学科间的界限变得十分模糊，方法学上相互运用，理论上彼此借鉴，大家有了共同的语言。这是因为生命科学家都在用化学的方法、手段与理论去探讨生命现象中的众多问题。目前生命科学家已有了共识：只有把维系生命现象的过程如同化学反应一样去研究它，理解它，才能把生命现象的本质揭示出来。这是生命科学发展的必然趋势。

50年代以来,生物化学与分子生物学取得了惊人的进展,解决了生物学中许多重大问题。核酸的双螺旋结构、核酸复制、遗传密码、遗传的中心法则、病毒中逆转录酶的发现,为基因工程技术奠定了基础。蛋白质的纯化方法、结构分析的高速发展,激素的受体学说及信息传递的第二信使的发现等等,都使生命科学上了一个新台阶。几乎每年的诺贝尔医学与生理学奖以及若干诺贝尔化学奖都授予了从事生化与分子生物学的科学家,他们的贡献在生命科学历史上留下了光辉的一页。

这些发明创造及由此产生的影响遍及生命科学各个领域,也为今后发展勾划出前进的方向。目前已是20世纪的最后数年,可以预言,21世纪的生物化学与分子生物学仍然会充满生机,并将继续影响生命科学的各个方面。生物化学与分子生物学的主要研究对象是蛋白质、酶、核酸、糖及脂类,其研究内容已更为深入并渗透到许多领域。

(一) 蛋白质与酶学

蛋白质的功能丰富多样,诸如运动、消化、吸收、信息传递等都是蛋白质功能的表现。如果没有一个基本原理去解释它们,就会被各种现象所迷惑。过去用严谨的物理学和化学理论以及实验技术揭示了小分子物质的性质与功能,同样的原理,大体上也能推导和预测像蛋白质那样复杂大分子的性质和功能,因此,当前蛋白质研究的一个中心课题是确定组成蛋白质的每个原子的三维空间排列。其最终目标是从蛋白质的化学式和三维空间结构预测其结构和功能,从而达到人类可以改造、模拟并合成蛋白质。

蛋白质一级结构即氨基酸的序列研究是蛋白质研究的基础。过去40年已有长足进展。近年来,分析手段的发展很快,如应用

快原子轰击质谱 (FAB/MS) 分析, 核磁共振 (NMR) 波谱分析, X 射线衍射分析等。X 射线衍射晶体学方法开发较早, 但至今仍是研究蛋白质晶体结构的最有效的手段。编码蛋白质基因的分子克隆技术以及快速 DNA 序列分析技术的建立, 是蛋白质结构分析的又一有力武器。

目前, 已有的分析方法正在进一步计算机化、微量化和联机化。可靠、迅速的分析方法积累了大量数据, 随之也建立了有效的数据库。一些未知功能的蛋白质通过与其他蛋白质之间的氨基酸序列相比较而得到了线索。

蛋白质基础理论研究的成就, 大大促进了新技术的开发。如多肽工程与蛋白质工程, 这是 80 年代兴起并迅速发展的领域。开始时主要是通过点突变来改造天然蛋白质, 以后发展到蛋白质分子的全新设计以至非肽模拟。多肽与蛋白质工程的发展最终将改变传统工业的高温、高压、高能耗状况, 代之以节省能量与资源的高效率生产方式。

酶学研究是蛋白质结构、功能与生物催化机理研究的结合。由于生物化学与分子生物学的每个领域都涉及酶学的理论和实验手段, 因此酶学和蛋白质研究都是生物化学和分子生物学的共同基础。

酶是生物催化剂, 体内所有化学反应几乎都是在酶的催化下进行。过去一直认为酶的本质是蛋白质, 并希望能有朝一日人工合成酶蛋白, 但始终未能实现。80 年代, 发现了酶活性核糖核酸 (ribozyme) 和抗体酶 (abzyme), 打破了酶即是蛋白质的经典概念。抗体酶技术将为酶的定向设计展现广泛的前景, 如果一旦能制造出对氨基酸序列有特异性的抗体酶, 能限制性地切割不同氨基酸残基间的肽键, 则将对蛋白质结构的研究提供新的手段。抗

体酶的定向设计也开辟了一个不依赖于蛋白质工程的真正酶工程领域。

酶学研究除了上述基础理论方面的重要成就以外，在应用研究方面也取得很大进展。

60年代后期兴起的固定化酶技术在工农业和医学中实际应用的巨大效益，已受到世界各国的注意。事实上，果葡糖浆、氨基酸、有机酸、酒精、抗生素等重要化工、医药产品已可由固定化酶技术生产。建立在吸附、共价结合、交联、包埋等物理和化学原理基础上的近百种方法已被用来将酶固定化在载体上或载体内。今天人们已能根据应用目的和酶的特性，选择合适的固定化方法和载体。固相酶的理论研究也因需要而获得发展，诸如固相酶的稳定性、动力学、底物专一性的改变等都已有不少报道和研究。通过固相化，使酶在有机溶剂中的催化成为可能，有机化合物的不对称水解、不对称合成、氧化还原反应和加成反应都有可能用固相化酶在温和条件下催化。在单一酶固相化的基础上，发展了多酶体系的共固相化，如天冬氨酸酶和天冬氨酸脱羧酶的共固相化可从延胡索酸生产L-丙氨酸。近几年来又进一步建立了固相活细胞技术，使细胞能在载体上生长繁殖，获得高密度制剂，并能将细胞生长期和生产期分开，延长生产期，使用后衰减的生产能力还可再生。为了生产高等生物体内某些具有经济价值的酶、激素、免疫化合物、生物碱、色素和香料等，又从固相微生物细胞发展至难度较高的固相动物、植物细胞。各种微载体和大孔胶材料为贴壁的动物细胞提供了较大的比表面，如琼脂糖凝胶、海藻酸聚赖氨酸微囊和中孔纤维可用来包埋贴壁细胞和悬浮细胞。已有报道应用固相化动物细胞生产单克隆抗体、干扰素和乙肝疫苗等。利用固相化植物细胞从简单碳源合成生物碱或进行生物碱等药物

中间体的转化也已有不少成功的例子。

固相酶技术的发展使生物传感器应运而生。生物传感器是具有专一识别功能的生物材料（如酶）与基于化学或物理学原理的换能检测装置结合而构成的，酶电极就是最早期的生物传感器。目前约有 10 种可用于临床生化测定的酶电极商品化，分别可测定葡萄糖、尿素、尿酸、乳酸和谷氨酸等。近几年来，生物传感器的发展十分迅速，有专一识别能力的生物材料已从酶发展到抗体、受体、细胞器甚至细胞组成功能元件，换能检测器也从电极（气敏、离子敏）发展到离子敏场效应晶体管、热敏电阻器、发光二极管、光纤和石英压电振荡器，能把各种化学信息转变成电信号加以度量。目前生物传感器的主要趋向是微型化和多功能化，并发展成生物芯片。把具有信息传递、记忆、分子识别、能量传递和放大功能的生物分子组成像集成电路那样的芯片，这将促进未来的生物电脑的出现。

（二）核酸

核酸是一类重要生物活性大分子。40 年代艾弗里 (Avery) 等人发现遗传物质是核酸，1953 年沃森和克里克创立了 DNA 双螺旋结构学说，奠定了现代分子生物学基础。此后，衍生出了分子遗传学和基因工程，为医学、农业、工业、环境保护等开拓了新局面。30 多年来核酸研究方面的科学家 16 次获得诺贝尔化学奖或生理医学奖，几占总颁奖数的四分之一。这也说明了核酸研究的重要性的发展迅速。

80 年代以来，核酸研究的新动向有四方面，一是 RNA 的研究又趋活跃，新的发现层出不穷。如酶活性 RNA 的发现，提示着生命起源过程中曾经有过一个 RNA 世界。RNA 曾经既携带遗传

信息,又具有催化活性。再如RNA编辑机理的发现是对中心法则的一个重要的补充。一个基因在不同组织或不同生理状态下,以从不同转录起始位点开始转录、不同的剪接方式和不同的3'端成熟而形成多种不同的蛋白,这是比基因重排更为灵活的调控方式。RNA的应用前景也日益宽广,如酶活性RNA阻断各种有害基因的表达和反义核酸的应用等。

核酸研究的第二个动向是研究的主要材料已从80年代前的原核生物转向真核生物。无论是DNA复制、RNA转录及前体的加工,还是蛋白质的生物合成,真核生物中的反应都较原核生物复杂得多。尽管真核生物中的这些过程现在还没有完全被阐明,但研究材料的改变已经引发如酶活性RNA、RNA编辑、mRNA前体剪接、DNA聚合酶等一系列重要现象的发现,它大大推动了核酸研究的发展。

核酸研究的第三个动向是核酸与核酸、核酸与其他生物大分子的相互作用越来越引起人们的重视。事实上,生物体内绝大多数核酸自一合成出来后就一直处于核酸与蛋白质、核酸与核酸、核酸与其他生物大分子的复合物中,它的各种生物功能也是在各种复杂的核蛋白体中完成的。如在基因转录的起始过程中,涉及很多核酸与蛋白质、蛋白质与蛋白质间的相互作用。不同基因的表达受不同组合蛋白因子的协同调节控制。

最后一点是,生物学已经历了从生物整体水平研究向分子水平研究的转移,近年来一些研究又开始从分子水平研究转向整体与分子水平研究结合的阶段。例如果蝇的发育受调控基因网络的控制,一些实验室正在以整体与分子水平研究结合的方式研究这一问题。核酸研究在这第二次转移中正在并将继续起着先导的作用。

(三) 糖复合物与生物膜

糖的生化研究已经历了近一个世纪，例如淀粉、麦芽糖、葡萄糖等的结构，在体内的消化吸收及氧化供能等的研究都取得很大成果。近二三十年来，发现另一类甚为复杂的糖化合物——糖蛋白、糖脂及蛋白多糖。它们有的覆盖在细胞表面形成一层糖被，起着细胞间的粘合、识别作用；有的存在于细胞间质及血浆、关节腔中，起着润滑及稳定蛋白质作用；它们还和细胞分化、癌变等密切相关。在生理上的重要性大大促进了这方面的研究。各种分析方法层出不穷，并取得了极大成就。当前主要问题仍是发掘其主要功能。

生物膜研究是综合生物学、化学及物理学的跨学科工程。它的成就已在药理学、神经生物学、细胞生物学等领域起到不可估量的作用。

细胞外面有一层质膜包裹。真核细胞除质膜外，还有各种细胞器的膜，将细胞分隔成许多功能区域。

生物膜的基本结构为脂双层，在通常情况下均以这种结构出现。但在某些生理条件下可出现非脂双层结构，如六角形或微团等。通过生物膜结构的研究，先后出现了“流体镶嵌”模型和“板块镶嵌”模型。

细胞所含的蛋白质约有 20—25% 与生物膜结构相连，被称之为膜蛋白。膜蛋白结构的研究近年来有所突破。膜蛋白结构的阐明可推动对其功能的深入了解。这方面的研究仍然是分子生物学的前沿和热点领域。此外，跨膜信息传递的研究、膜蛋白与膜脂相互作用的研究近年来均取得不少进展，而且今后会继续受到很大关注。

(四) 激素、生长因子及癌基因

激素是沟通细胞间与器官间的化学信使，通过内分泌、自分泌、旁分泌、神经内分泌等作用方式行使传讯功能，从而使机体组合成一系列严密的控制系统，调节生命的全过程。生物从受精卵开始，生长、发育、成熟乃至衰老，都受激素的影响和调节。激素作用的本质和活动规律的阐明，不仅对于生命科学具有重要的理论意义，而且对于人类的内分泌疾病（如糖尿病、脑垂体病和甲状腺病等）及非内分泌疾病（如心血管疾病、肿瘤、精神疾病等）的发病机理、临床诊断与治疗，对于实现人类计划生育及延缓衰老均有实际意义。动物激素研究对于家畜饲养、鱼类增产，以及植物激素研究对农业增产和农产品储存均有广泛应用价值。此外新型激素及生物活性肽类药品的研究也有良好前景。

近 20 年来，生物化学在理论上及技术上渐趋成熟，新肽类激素的发现层出不穷。迄今为止，陆续发现的胃肠肽类激素已达 40 余种，神经肽有 50 余种（如吗啡调节肽、催眠肽等），循环系统肽类激素有数十种（如心钠素、血管紧张素、抗心律失常肽、内皮素等），肽类生长因子也有 50 余种（如表皮生长因子、血小板衍生的生长因子、胰岛素样生长因子、成纤维细胞生长因子、神经生长因子）等，此外，还有胰抑素、甘丙素、降钙素基因相关肽 α 和 β 等。

与此相应，肽类激素受体结构与功能的研究也进展迅速。受体研究对一些新的生物分子和新合成药物的设计、评价作出了很大贡献。很多生物分子和药物可以利用与受体结合的方法进行筛选，并可以发现新的物质。例如脑啡肽就是在研究识别吗啡的阿片受体工作中发现的。人们通过进一步对分子结构的改造就可

能制成镇痛效果强而不会成瘾的药物。大脑的神经递质激素和其他物质的受体与学习、记忆、思维和情绪等密切相关,如脑中神经递质或其他活性物质的受体脱敏,可引起机体反应迟滞和障碍。因此,神经兴奋药和它的抑制剂与记忆和智能关系的研究,也是受体研究的重大课题之一。

固醇类激素的作用在于调控基因表达。激素在靶细胞中以高亲和力、专一性地结合特定的受体蛋白后,进入细胞核与染色质结合,从而导致某些特定基因的激活或抑制。大量的研究都集中于各种激素受体的鉴定、提纯、结构功能分析,以及受激素调控的靶基因的分离与鉴定。最近五六年来,几乎所有固醇类激素受体基因均得以克隆和序列测定,可以看到它们的结构有很大的同源性,形成一个所谓的“固醇类受体超大家族”(steroid receptor superfamily)。其成员除已知的固醇类受体外,还包括甲状腺素、维生素 D₃ 及视黄酸等的受体。

癌基因的发现是肿瘤研究的一个里程碑,而阐明激素、生长因子受体与癌基因及其产物的关系是近年分子生物学和分子肿瘤学研究的热点。

近几年来,大量实验结果表明,不同的原癌基因产物都是复杂的细胞信号转导网络中的组分。在信号网络中,这些蛋白质完成不同的功能,其中包括:在细胞外侧表现为配体及生长因子功能;在质膜中表现为受体的功能;在胞质中具有信号转导物的作用;以及在核中作为转录因子。这些实验提示,即使不是全部,大多数癌基因的产物参与生长因子-受体应答途径,由于在这点上的变化导致恶性转化。

生长因子与受体结合后,通过受体后的信号传递,最后导致特定的基因激活:蛋白质生物合成以及细胞的分裂、增殖、分化

等活动产生。目前受体后的信号传递途径的研究已成为前沿领域，特别是生长因子和癌基因产物在信号传递中的相互关联更是令人注目。

(五) 分子免疫学、分子遗传学及分子病毒学

当今国际上分子免疫学的主要课题是识别分子（如抗体、细胞因子）和效应分子（如抗原、受体等）的结构、功能和基因的研究。目前，对抗体的结构以及基因表达的全过程已经了解得比较清楚了。如抗体生成不仅要有产生抗体的B细胞，还要有T细胞的参与；组织或器官移植要考虑两个个体之间是否相容，即所谓组织相容抗原；抗原-抗体反应尚有补体参与；干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子是一群调节免疫应答的蛋白质等等。上述内容都是当今分子免疫学的热门课题。如何通过主动免疫预防诸如艾滋病、血吸虫病等严重危害人类健康的疾病，当然也是分子免疫学中重大课题。

分子遗传学在分子水平上研究遗传与变异机理。近年来由于重组DNA技术、聚合酶链反应(PCR)、DNA限制性片段多态性(RFLP)和快速放大多态DNA(RAPD)方法的开发应用，使分子遗传学研究发展日新月异。在此基础上建立的遗传工程不仅成为一个新的生产领域，同时又反向促进了分子遗传学、生物化学、细胞生物学等学科的发展。未来发展的一个大趋势是反向生物学，即从内在的基因入手，研究生物分子的结构和功能、编码的蛋白产物在细胞或个体生命活动中的作用，阐明外观上千变万化的生命现象的本质。分子遗传学研究应占这一发展趋势的核心地位。

病毒学是一门横跨生物学、医学和农学的十分重要的独立学科。噬菌体的定量遗传研究曾经为分子遗传学的创立奠定了基础。

近 30 年来,随着生物化学、细胞学、遗传学、免疫学、临床医学和动、植物病理学的相互渗透,相互促进,各种物理、化学新技术和分子生物学方法的广泛应用,使病毒学已经全面进入分子病毒学阶段,并成为分子生物学前沿的综合性学科之一。

病毒是研究基因组结构和表达调控机理的最好模型。研究反转录病毒发现了反转录酶,从而修改补充了遗传信息传递的“中心法则”,同时使 cDNA 基因的合成和异源重组表达成为现实。肿瘤病毒的研究导致了原癌基因的发现,使肿瘤发生机理研究有了新的突破。真核病毒基因组结构和表达的一系列重要发现,如基因重叠、内含子的剪辑、转录后加工、翻译后修饰、增强子等各种顺式调控信号和反式调控蛋白因子等等,为阐明真核基因表达调控的基本原理,带动分子生物学迅速发展起了重要作用。

现代临床病毒学研究表明,有更多的新病毒病正在严重危害和威胁着人类生存。据统计,人和动物的传染病约有四分之三是由病毒所引起。诸多病毒病对人类的严重威胁与寥寥无几的防治手段形成了极鲜明的反差。造成这种局面的主要原因之一,就是因为人们对各种病毒的分子生物学知识积累仍远远不足以为防治病毒病提供必要的理论指导和可行的技术手段。分子病毒学的发展将为改变这种状况作出重要的贡献。同时以杆状病毒为代表的无公害病毒杀虫剂的开发应用,以各种病毒为载体的基因工程,将为减轻虫害、改善环境、促进以生物技术为支柱的高技术产业的发展 and 实现肿瘤及遗传疾病的基因治疗开创新的途径。

(六) 基因工程

基因工程技术自 70 年代建立后引起了科学界的高度重视,这

是由于用基因工程方法可在体外按人们的要求进行基因重组和基因改造,并通过各类基因载体进行基因转移,打破了基因重组和基因转移的物种界限。以基因工程为核心的分子生物学方法在生物学研究中得到广泛的应用,几乎渗透到生命科学的各个领域,成为研究和揭示生命现象本质和规律的一种重要工具。另一方面,基因工程使生产人体内源各类细胞因子、激素等活性多肽、蛋白质成为现实,基因工程产品已逐步发展为生物技术产业中一个重要的引人注目的新兴产业。基因工程的基础研究包括基因结构与功能、基因的复制与表达、基因分离、合成与修饰、基因的克隆与表达、基因的转移、基因产物的后加工等研究。20年来基因工程基础研究不仅使基因工程在理论上和技术上日趋完善,应用范围不断扩展,衍生和发展了蛋白质工程、途径工程、转基因动植物、基因治疗等新研究领域,对生物学和生物技术产业的发展都有深远的影响。

五、我国生物化学与分子生物学的主要成就和水平估计

我国生物化学与分子生物学经过70多年的发展,已具相当规模,中国生物化学与分子生物学会已拥有会员六千余人。近年来,我国又建立了相当数量的重点实验室,目前的设备条件与十多年前相比已有很大改善。如果能够得到充分利用,加强设备维修和及时补充更新,则在设备条件上可说已具备一定的基础。

目前我国生物化学与分子生物学的各个主要分支学科已经基本配套,原来有基础的研究领域如多肽与蛋白质、酶和核酸等,研究内容和范围已在不断扩大和深入。更为重要的是若干新兴领域

如分子遗传学、分子病毒学、分子免疫学等得到了重点扶植和加强，为今后的进一步发展打下了较好的基础。与此同时，我国已开展基因工程和蛋白质工程研究，使我国生物化学与分子生物学在中国经济建设中崭露头角。

在过去 10 年中，生物化学与分子生物学的一些成果，如牛胰岛素及酵母丙氨酸 tRNA 的人工合成及序列的测定、天花粉蛋白一级结构测定、胰岛素和一些蛋白质晶体结构研究、酶修饰的动力学和酶的结构与功能研究、生物膜的研究、光合作用的研究、视觉分子生理学等等，学术水平平均达到或接近了国际先进水平，受到国际生物化学与分子生物学界的重视。

但从总体上说，我国生物化学与分子生物学研究与国际先进水平相比尚有较大差距，许多领域还十分薄弱，某些方面尚是空白。

六、我国生物化学与分子生物学发展的构想

发展战略必须根据学科的国际发展趋势和我国具体情况制订。

我国是发展中国家，又处于经济建设快速发展时期，百业待兴，各行各业都必须为我国社会主义经济保持长期稳定发展作出贡献。生物化学与分子生物学也不例外，要把立足点转移到为主战场提供服务，去研究解决经济建设中急待解决的重大问题。因此必须选择对国民经济有重大关系的高新技术加以开发利用，国家高技术项目中有关生命科学的课题，已充分体现了这一构思。

但是，生物化学与分子生物学又是基础理论学科，在当今生命科学中具有举足轻重的地位。应用性课题如“863”项目虽然对

基础理论有所促进，但不可能替代理论研究；况且基础理论是高科技的基石，由于理论上的差距，目前我国在高科技方面只能跟踪国外，因此应重视生物化学与分子生物学的基础理论研究。多年来，生物科学已经经历了从生物整体水平研究向分子水平研究的转移，近年来一些研究又开始从分子水平研究向生物分子的组合以及整体与分子水平研究结合的阶段，如氧化磷酸化与线粒体，光合作用与叶绿体，蛋白质加工及转运与高尔基体，果蝇的发育与调控基因网络等等，因此应“扬长创新”建立我国自己的研究方向，同时跟踪国外研究进展。

基础理论研究需要经过长期努力才能取得成效，而且由于理论研究愈来愈多地依赖于大型仪器和精密试剂，这就要求国家投入较大的财力和物力。但限于国家的经济实力，基础研究经费不可能增长很快，这就需要用较少的投入做出具有影响的成果。这是制订战略过程中既很困难又很重要的。我们不可能期望到2000年全面赶超国际先进水平，但我们应该能在部分领域处于国际先进水平。

近10年来，我国已建设起一批设备比较齐全的重点实验室，由造诣较高的学术带头人领导，今后在某些领域取得重大突破也是完全有可能的。但另一方面也应看到，我国生物化学与分子生物学研究面临经费缺乏与人才流失的问题，国内药品、生化试剂涨价幅度较大，课题组开展研究工作困难重重，基础研究队伍又因种种问题难以稳定，因此急需制定对策。

七、我国生物化学与分子生物学近期发展重点

根据我国的实际情况，必须确立一个有限目标。应优先予以

考虑的重要领域有以下几个方面。

(一) 生物分子及其组合体的化学和三维结构的研究

(1) 生物活性多肽的研究。着重于神经肽和免疫多肽的研究，并努力发现更多新的生物活性多肽。

(2) 蛋白质的三维结构及与生物功能关系的研究。重点在于完整、精确、动态地测定蛋白质在溶液和晶体状态下的三维结构，并分析与其功能的关系。

(3) 蛋白质折叠的研究。主要包括体内新生肽链的折叠和体外变性蛋白的重折叠，以及以氨基酸序列知识为基础的蛋白质构象预测。

(4) 多肽工程和蛋白质工程。主要包括通过有控制的基因修饰和基因合成，对现有蛋白质和多肽加以定向改造，同时设计并最终生产比自然界已有的性能更加优良、更加符合人类需要的蛋白质和多肽。

(5) 核酸的结构与功能研究。包括 tRNA 的结构与功能、核糖体的结构与功能、DNA 的复制、RNA 的翻译、酶活性 RNA 的结构与功能、snRNA 的结构与功能研究。对反义核酸及酶活性 RNA 的应用研究亦必须给予足够的重视。

(二) 酶学研究

(1) 加强基础酶学研究。包括酶的分子克隆和酶工程基础研究；酶的空间构象与功能关系的研究；抗体酶的研究；酶的定向设计研究等。应注意选择生命现象中的关键酶，特别是一些国外尚未涉及或涉及不多的酶进行研究。

(2) 适当安排应用酶学研究。包括酶在疾病诊断和治疗上的

应用；发展高灵敏度的酶学测定技术；用酶基因工程和酶基因转移等技术手段改进作物品种；工业用酶的质量改善和新品种开拓等。

(3) 重视酶工程研究。包括开发高效、稳定、廉价的固相载体，研究高效的固相技术（如多酶体系的共固相及细胞的固相化），生物传感器的研究等。

(三) 基因信息的表达、调控、传代等的机理研究

(1) 基因表达调控的分子机理。包括核酸-蛋白质的相互作用，转录、转译和后加工过程中顺式元件和反式因子的作用等。

(2) 基因工程的基础研究。应加强基因工程相关的基础研究（如上述的基因表达调控、工程化宿主、翻译后加工、肽链折叠等）和关键技术（如基因体外操作和基因转移技术、包涵体后处理、肽链再折叠、高密度培养技术等）研究。应结合我国的资源和实际情况，扩展基因工程的研究和应用范围，并尽快建立我国的基因库和细胞库。

(四) 具有调控作用的生物分子的化学及其受体的作用机理研究

包括动植物激素作用机理研究，内分泌和生长因子、生长抑制因子等活性物质的化学特性和作用机理研究。

(五) 生物分子的组装——生物膜的研究

包括膜脂与膜蛋白的相互作用，膜蛋白之间的相互作用，物质跨膜传送，跨膜信息传递和脂质体功能等研究。

(六) 一些跨学科的研究

(1) 分子病毒学

为尽快改变我国在分子病毒学研究中基础薄弱、空白领域多、与国际水平差距较大的现状,选择的优先支持项目,必须密切结合我国病毒的防治、高技术产业和分子生物学发展的需要。因此,应支持的前沿课题有:乙肝病毒基因组的复制和基因表达调控及新型基因工程疫苗的研制;爱滋病病毒的分子诊断技术与防治;杆状病毒基因的转录调控和载体表达系统的改进与开发;基因工程病毒疫苗;肿瘤病毒的致癌机理;植物病毒的分子病理学与抗病毒转基因植物等。

(2) 分子免疫学

包括 MCV 多态性以及 T 细胞选择的关系;免疫系统的分子识别——免疫球蛋白和 T 细胞抗原受体的研究;补体活化的分子机理及其控制;细胞因子及其受体的结构与功能研究等。

八、战略措施与政策建议

(1) 在国家现有财力条件下,自然科学基金经费不可能有大幅度增长。然而基础研究急需扶持与发展,这就需要有正确的战略措施与政策。生物化学与分子生物学是当代生物学发展最迅速并且最有活力的一个分支,起着带头学科的作用,生物学的其他分支都需要运用生物化学与分子生物学的概念与方法,化学、物理学以及数学、计算科学也都在向它渗透,它的发展还促进了生物技术的发展。因此,必须对生物化学与分子生物学学科给予足够重视,并在经费上给予重点支持。

(2) 抓住国际前沿课题，组织协作，在明确的目标与阶段目标下，稳定地支持一段较长的时期。

(3) 组织的重大项目必须考虑到先进性和可行性，选择的子课题既要注意学术意义，又要彼此间有有机的联系。在经费上切实加强资助强度。同时应充分发挥牵头单位的积极性与责任心，使其有责有权而对基金委负责，起到检查督促的作用。应避免过分依赖大型仪器，但要保证常规仪器设备的先进性。协作单位应优势互补。实施过程中应减少报表，组织真正的交流。

(4) 基金委通过几年来的实践，已对有关院校和研究所实验室的水平、作风有比较深入的了解。应在这个基础上采取分级管理，依此委托他们承担不同大小及水平的课题。

(5) 加强国际合作与交流，争取与国外基金会共同支持合作研究。对于一般性的访问与国际会议宜从严掌握。

(6) 基金支持的相近的课题应尽量采用不同系统（或对象）。支持一些课题从不同角度进行研究，也会使整体水平有个飞跃。基金委应在宏观上加以协调，而不是仅仅接受申请与讨论申请。

1

生物化学与分子生物学的兴起与发展

生物化学与分子生物学是生命的化学。化学研究原子和分子的结构、性质及其相互作用，生物学研究生物有机体的结构和功能，生物化学与分子生物学则是化学和生物学之间交叉而形成的一门独立学科。

1.1 生物化学发展简史

在 18 世纪的化学家中最早研究生物化学现象的当推法国的拉沃依塞尔 (Lavoisier, 1743—1794)。他第一个证明动物身体的发热是由于体内物质氧化所致。(动物摄入氧, 将食物在体内氧化, 产生水和 CO_2 , 同时放出热。吸入氧与呼出 CO_2 的过程即为呼吸作用。) 18 世

纪后期, 科学界出现了生机论的唯心论观点, 认为有机物中有“生活力”, 这是不可知和无法研究的。直至 1828 年, 沃赫莱 (Wohler, 1800—1882) 在实验室中将无机化合物氰酸铵 (NCONH_4) 合成为公认的有机化合物尿素 ($\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$)。这使得生机论者受到了第一次打击。

生物化学在 19 世纪的发展, 为 20 世纪前 60 年的研究奠定了基础。如食物中主要营养物质——糖、蛋白质、脂类及其新陈代谢的意义的提出 (Liebig, 1803—1873), 酶的发现 (Pasteur, 1822—1895), 营养学的发展 (必需氨基酸、维生素及矿物质在营养上的重要性的阐明等) (Hopkins, 1861—1947), 蛋白质的氨基酸组成、单糖结构的提出 (Fischer, 1852—1919) 等。世界上第一种生物化学学报——《生理化学学报》(Zeitschrift für Physiologische Chemie) 亦于 1877 年应运而生。生物化学从此进入了正常的发展壮大时期。20 世纪前 60 年的进展, 使生物化学进入了更成熟、发展更迅速的阶段。其中重要的, 如证明酶的化学性质是蛋白质 (Summer, 1926), 许多代谢途径的阐明, 生物能研究的进展, 蛋白质二级结构的提出 (Pauling & Corey, 1951), 胰岛素分子的 51 个氨基酸序列的确定 (Sanger, 1953), DNA 双螺旋结构的发现 (Watson & Crick, 1953), 原核细胞基因表达调控的阐明 (Jacob & Monod, 1961), 应用 X 射线衍射获得肌红蛋白及血红蛋白结晶的三维结构 (Kendrew & Perutz, 1963) 等。自此以后, 生物化学与分子生物学的发展更是一日千里, 成为生命科学中最具活力的学科。

1.2 分子生物学源于生物化学

自从1953年沃森(Watson)和克里克(Crick)报告DNA双螺旋结构以后,使遗传、蛋白质生物合成等生命现象中的重大问题,可以在分子水平上加以剖析,于是产生了以此为核心理念的分子生物学。但时至今日其含义已大为扩展,成为研究生物大分子结构与功能以阐明生命现象的一门学科。它包括两部分内容:即分子遗传学和分子生理学。分子遗传学是从分子水平解释遗传现象。DNA的核苷酸序列中储存着遗传信息(基因组),基因组的结构、复制、转换、修复、变异以及控制基因表达的各个元件,蛋白质生物合成等都是其主要研究内容,目前又发展到生物学的一些基本现象,如发生、分化、进化、老化以及免疫等。分子生理学是从分子水平研究与剖析生理现象,研究对象包括细胞器,如线粒体、肌肉细胞、神经细胞、细胞膜等等。而生理学的中心内容是在脏器水平上研究消化、吸收、运动、感觉、物质输送、兴奋传导等。

1.3 从分子水平研究生命现象

有机体从外观看千差万别,种类繁多,但从生物化学与分子生物学探究,其遗传信息的传递、核酸与蛋白质的基本结构与功能,几乎完全相同。机体内的生物化学反应即所谓代谢通路以及催化这些反应的酶的结构和催化性质等都十分相似,一些基本代谢过程则近于同一模式。这些事实说明,生物界的物种千千万万,但从分子水平上,从病毒、细菌到人类都是如此的相似,因此分

子水平的研究正是了解生命现象的本质所在。

由于近年来物理学、化学和生物学新技术的不断发展和应用,使得生物化学与分子生物学的发展异常迅速,并渗透到生命科学的各个领域,成为生命科学领域中的带头学科和热点。

1.4 中国早期生物化学的发展

郑集教授在他所著《中国早期生物化学发展史》一书中作了详尽综述,书中收集了大量文献资料。该书列出的 33 名中国早期生化学家中有 25 人主要从事或曾从事营养学研究,有少数学者从事蛋白质、发酵、代谢、医学生化等研究。中国营养学会早在 1945 年就正式成立,而生物化学学会虽在 40 年代后期开始筹办,但直到 1978 年才正式宣告成立。由此可见我国老一辈生物化学家曾在营养学上作出过重要贡献。著名的生物化学家吴宪(1893—1959)堪称中国生物化学的奠基者。他在血液分析、蛋白质变性、食物营养和免疫化学等四个领域中都作出了重要贡献,并培养了多名生化学家如刘思职、陈同度等。

新中国成立以来的 40 余年,生物化学与分子生物学研究队伍迅速扩大,至 1991 年中国生物化学学会会员已达 6300 人,他们都是具有中级职称以上的生化和分子生物学工作者。在研究工作上也取得了一批很高水平的成果,如人工合成胰岛素和酵母丙氨酸 tRNA 等,建立了一批具有国际水平的实验室和研究所。在此,我们不能忘记在建国初期一批留学国外、学有所成的生物化学学者怀着满腔的爱国热情,回到当时还十分贫困落后的祖国,以他们对科学的执著,撒下了近代生化的种子,并且培养出了一大批人才。目前我国与先进国家相比,生化队伍尚嫌太小,科研经费不足。

相信随着经济的发展,我国的生物化学事业一定会显出蓬勃生机。

1.5 生物化学与分子生物学的主要内容

生物化学与分子生物学领域虽然很宽,但就其主要内容则可归纳为如下几个方面:

1) 生物分子及其组合体的化学与三维结构的研究,以及结构与功能之间的关系。

2) 蛋白质功能的研究,例如酶促作用,受体识别,分子间专一性结合的机理;信息通过受体本身或通过分子间的作用而传递的机理。

3) 基因的表达、调控、传代等的机理。

4) 生物分子的合成和组装。

5) 细胞分裂和繁殖的生物化学过程及控制机理。

6) 细胞及组织的生长、分化、衰老的分子基础。

生物化学与分子生物学是当前各学科中发展最为迅速的学科。它的迅速发展一方面得益于化学、物理学、数学和电子技术、计算机技术等学科内的新理论、新技术、新方法向生物学的广泛渗入和应用;另一方面亦由于生物化学与分子生物学的原理和技术向生物学其他领域的广泛渗透。由此而发展产生许多新的领域、学科和形成一些高新技术,如分子遗传学、分子病毒学、分子药理学、基因工程、蛋白质工程、酶工程、生物传感器、生物芯片等。这种广泛的渗透仍在不断进行中。因此,企图全面而无遗漏地讨论本学科的发展是困难的。这里仅讨论本学科发展中最主要的一些分支领域,内容偏重于本学科中的基础研究及部分应用基础研究方面。

2

生物化学与分子生物学的发展趋势

2.1 生命科学的未来与希望

生物化学与分子生物学是生命科学中的一个非常重要的学科领域，它代表了生命科学的未来与希望。回顾本世纪初，生物学分科十分细，各学科所讨论的领域彼此间界限甚是分明，例如解剖学、细胞学、微生物学、病理学、生理学、药理学等，各自都有明确的学科边界。但是到了 20 世纪末期的今天，学科间的界限变得模糊不清，方法学上相互运用，理论上彼此借鉴，大家有了共同的语言。这是因为生命科学家都在用化学的和物理的方法、手段和理论

去探讨生命现象中的诸多问题。目前生物学家已有了共识：只有把维系生命现象的过程如同研究化学反应一样去研究它，理解它，才有可能从分子水平揭示生命现象的本质，这是生命科学发展的必然趋势。诸如分子细胞生物学、分子生理学、分子免疫学、分子药理学、分子病毒学等无不以分子为研究对象，甚至像寄生虫学这样的学科也要借助生化理论与手段去开发诊断与防治办法。遗传现象以往一直可见而不可知。运用经典遗传学方法可以得出遗传规律，但讲不清内在机理。自从发现了核酸，遗传现象不再扑朔迷离，遗传性状可以通过变异和物种间基因转移而改变。由此可见，从分子水平去研究生命现象可以抓住问题的本质。当然，基础理论上的重大发现和构思巧妙的方法结合应用于解决实际问题是非常重要的。近年来生物技术应用于医学如糖尿病、肿瘤、代谢性疾病等等已开辟出新的诊治途径。

人的心理状态和行为往往被认为是由意识及潜意识所支配，事实上这些也都是有一定物质作用的结果。心脏和肝的功能已能用化学语言去阐明；有关脑的退行性疾病的化学基础目前也已有初步结果；脑细胞的再生也因一些生长因子的发现而成为可能。最近又有报道称动物的性行为是受催产素所调节和控制，至少催产素在性行为中起着不可忽视的主导作用。被称为 21 世纪热点的神经生物学，由于人们开始从分子水平进行研究而变得更有前途。

核酸的复制、转录、修复和重组的研究成果促进了生物工程技术的发展，并使生物工程渗透到医药工业、食品工业、畜牧业、农业等各个领域。

2.2 高速发展趋势

50年代以来,生物化学与分子生物学取得了举世瞩目的成就,解决了生物学中许多重大问题。如核酸的双螺旋结构、核酸复制、遗传密码、遗传的中心法则等。病毒逆转录酶的发现,更加速了基因工程技术的现实可行性。蛋白质的纯化方法及结构分析的快速发展、激素受体学说、信息传递的第二信使的发现等等,都使生命科学上了一个新台阶。因此,几乎每年的诺贝尔医学与生理学奖以及若干诺贝尔化学奖都颁发给了从事生物化学与分子生物学的科学家。他们的贡献在生命科学历史上留下了光辉的一页。

这些发明创造影响着生命科学的各个领域,同时也为它今后的发展色勾画出了前进的方向。目前已是20世纪的最后几年,即将进入新的世纪。可以预见,21世纪的生物化学与分子生物学更加会充满生机,并将继续影响生命科学的各个领域。在此,我们无法介绍本学科涉及的全部内容,而只能以生物大分子为主线,阐述其发展趋势。

3

生物化学与分子生物学的发展与现状

3.1 蛋白质化学

3.1.1 蛋白质的三维结构与功能

蛋白质的功能丰富多样，诸如运动、消化、吸收、信息传递无一不是蛋白质功能的表现。如果没有一个基本原理去解释这众多功能的现象，则有可能陷入被各种功能现象的描述所淹没而迷失方向的危险。过去用严谨的物理学和化学理论以及强有力的实验技术揭示了小分子物质的性质与功能；同样，也应该能推导和预测像蛋白质那样复杂大分子的性质，最终了解蛋白质的结构与功能。

(1) 蛋白质一级结构——氨基酸的线性序列的测定是蛋白质研究的基础。

在这方面,过去 40 年已有长足进展,其分析技术已经达到微量水平:10—100 pmol 样品足以分析数个 N 末端氨基酸序列和氨基酸组成;100—200 pmol 样品可以作肽链的指纹图或 HPLC 谱、氨基酸序列和质谱分析,从中还可获得许多重要信息;100—1000 pmol 足以测定全部(90%以上)的氨基酸序列,包括多个肽图和翻译后修饰。

质谱的应用是近十年来多肽分析的又一新的分析手段,其中应用最广泛的是快原子轰击质谱(FAB/MS)。用此方法,多肽不必制成衍生物而直接置于质谱仪,用中性原子束(如氩)或金属离子束(如铯)产生质子化的分子离子。在高磁场下能够扫描 10000 m/z ,即可分析大多数多肽片段。能测出质量在 1000 以下的多肽结构式,其准确度可达 1—10000 质量数。足以分辨—COOH 和—CONH₂。灵敏度可达几个 pmol,能与微量序列分析及氨基酸组分分析相匹敌。此外,结构测定是根据测出的质量数据,没有鉴别化学衍生物(一般质谱)或测定保留时间(HPLC)等复杂步骤。随着数据的积累,可以很容易地定出结构式以及翻译后转录等信息。现在新的质谱仪和新的进样方式以及更灵敏的检测手段还在不断开发,质谱仪也在不断更新。

编码蛋白质基因的分子克隆技术以及快速 DNA 序列分析的建立,是蛋白质结构分析的又一有力分析手段。人们一度认为从此可跳过复杂的氨基酸序列分析,但是蛋白质往往有翻译后修饰,我们不能从 DNA 序列中获知这方面的信息。此外,初步的蛋白质结构信息是鉴定基因的基础,由重组 DNA 产生的大量蛋白质,又

可检验测得氨基酸序列的正确性。事实上，现代蛋白质结构分析和分子遗传学是相辅相成的。

目前的序列分析都从 N 末端开始，如果能开发出 C 末端开始的氨基酸序列分析，将有助于对序列的了解，也可不必对从新生蛋白质到成熟蛋白质加工过程进行猜测。国内用羧肽酶降解羧基端氨基酸以测定其序列，已取得了若干经验。除酶法以外，尚可用硫氰酸等化学法。

目前已有的序列分析方法正在进一步微量化和联机化，例如毛细管电泳仪与序列分析仪联机以及用荧光标记以提高检测的灵敏度等。

由于分析方法快速可靠，可以积累大量数据，并由计算机建立起有效的数据库。一些未知功能的蛋白质通过与其他蛋白质之间的氨基酸序列比较，而得到有用的信息。例如癌基因 *sis* 编码的蛋白，经比较发现它与血小板产生的生长因子 PDGF 非常相似，并且也具促进生长的作用。再如热休克蛋白分子中有一段氨基酸序列与 ATP 酶分子中的一个片段亦很相似，即所谓同源性，后来证明热休克蛋白确实具有 ATP 酶作用。许多 Ca^{2+} 结合蛋白都有同源的氨基酸片段。这样就产生了一个新概念——蛋白质结构家族。我们可以根据蛋白质的同源性确定其应属哪一个蛋白质结构家族，并可推测其功能。若某一蛋白质的结构中含有信号肽，我们可以预测是膜蛋白；若其结构中有核酸结合序列，我们可以推测此蛋白可能结合 DNA 或 RNA 等等。

(2) 蛋白质三维结构描绘出蛋白质分子中每一原子的空间位置、相邻关系及电子云密度

蛋白质三维结构测定，除了 X 射线晶体学以外，近年又发展

了核磁共振 (NMR) 技术。虽然目前核磁共振能测定的蛋白质的分子量较小 (20kD 以下), 但此方法有其不可替代的优点: 它可以测定在溶液中的样品。因为蛋白质在溶液体系中更接近于生理状态, 而且用核磁共振方法无需使蛋白质结晶, 而结晶往往是很困难的。核磁共振谱能给出蛋白质三维结构的指纹图谱, 这是早已知道的事, 但其作为测定蛋白质结构的一种有力方法, 是在许多领域取得进展之后才得以实现。如超导磁技术的成就, 产生了今日的 500 及 600 MHz 核磁共振仪; 2DNMR 分辨蛋白质群集的¹H 谱; 结构较为松弛的蛋白质构象计算机计算的 NMR 谱等。

自从 1960 年 X 射线衍射技术成功地应用于蛋白质结构分析以来, 它仍然是提供分子结构高清晰图象的方法。对于小至 NaCl 晶体, 大至病毒晶体, X 射线衍射技术都能确切地显示其中的原子排布和电子云密度。目前已经收录到数据库的蛋白质晶体结构已超过 400 个。随着基因克隆生产足够量的蛋白质, 可以预计将会获得更多的蛋白质, 包括它们的基因突变产物的晶体结构。

就方法学而论, X 射线衍射技术从结晶制备、数据收集、相位测定、制图到结果判断都尚在不断发展之中, 新的计算方法和仪器的不断出现, 都大大提高了此项技术解析蛋白质结构的能力。

蛋白质三维结构测定加深了对现代生物化学中两个中心问题的理解: 首先, 通过对蛋白质折叠的分析, 得知氨基酸序列与三维结构之间的关系; 其次, 三维结构是分子识别及配体和蛋白质分子间结合的分子基础。此外在分子组装、药物设计、多肽合成设计、蛋白质的结构与其稳定性及功能关系等方面, 蛋白质三维结构的测定也是非常有意义的。

总之, 蛋白质三维结构的研究有助于了解蛋白质是如何发挥作用的。下面再举几项近年发表的重要成果: 紫菌光合反应中心

是镶嵌在膜中的蛋白质，其三维结构于 1987 年被测出。这是个含四个蛋白质分子的复合物，能将光能转化为跨膜的电势梯度。得出的三维结构显示出电子通过蛋白质穿过光合成膜的途径；又如，免疫系统中的抗原抗体复合物于 1986 年第一次被测定出来，这一结构的直接测定，使我们开始了解到有关免疫系统是如何识别及摧毁外来分子的基本信息；再如，在药物设计上运用蛋白质三维结构所提供的信息，已合成了像抗高血压药 Captopril 及抗菌增效剂三甲氧苄二氨嘧啶等。由此可见，如何从三维结构所提供的信息，去了解蛋白质发挥功能的机理，以及应用这些信息去开发新药物，这是值得我们今后重视的课题。

(3) 肽链的折叠

安芬森 (Anfinson) 的核糖核酸酶在试管内重折叠的经典实验，说明氨基酸序列决定了蛋白质的高级结构。蛋白质复性过程有的需要十多小时，有的则不到一秒钟。如果由 n 个残基组成的多肽，就可以有 10^n 种以上构型。在如此之多的可能性中，最后只可能形成一种天然的稳定构型，其中如果没有一种规律起作用是不可想象的。过去数十年来，许多生物化学家一直为此而努力探索，提出了各种肽链折叠的可能途径。其中有一途径与近年克里顿 (Creighton) 对牛胰蛋白酶抑制剂 (58 肽) 的实验结果相吻合：不规则的多肽链首先在局部形成短的 α 螺旋和 β 折叠，并以此为核心逐渐形成较大的稳定结构——结构域 (domain)，结构域一般不超过 200 个氨基酸残基。有多个结构域的蛋白质，其结构域之间形成较为松散的结构，再经疏水程度的调整，疏水基团转向内部，折叠成蛋白质的三级结构。其间有一些酶参与，如二硫键异构酶和肽酰-脯氨酰顺反异构酶识别并纠正不正确的结构。

蛋白质在粗糙内质网系合成时，肽链的折叠受到如引导肽的存在、肽链与膜的相互作用、侧链的修饰等诸多因素影响。近年来发现相当多的新生肽在细胞内的正确折叠需要有辅助折叠的蛋白质——分子伴侣(chaperon)的存在。分子伴侣的作用，是防止不合适的相互作用或摧毁任何存在不合适的相互作用。它与新生蛋白结合，保护了一些高度疏水或高度亲水的面，这就防止了蛋白质的凝集。

(4) 蛋白质的结构域

蛋白质的肽链往往是由几个相同或不不同的结构域所组成。每一结构域具有特定的生物功能。实际上可以把每个结构域看作为一个构件。结构域与蛋白质亚基是不同的概念，它是指肽链中的局部肽段，有其相对的独立性，其同源结构可在其他蛋白质中找到。目前了解较多的，有与蛋白质分泌有关的结构域，即位于N端之前的信号肽；有与蛋白质残基修饰有关的结构域，例如在凝血因子FX、FX、FVII、C蛋白等的N端，有一个所谓Gla结构域；有与蛋白质活性激活有关的结构域；有与蛋白质生物功能有关的结构域，如一些蛋白酶抑制剂有几个活性中心。由不同源结构域组成的蛋白质，一般功能比较复杂，分子量也大。例如与凝血及纤溶有关的各种蛋白酶就是由以下几种结构域以不同的组合方式装配而成：Gla(γ -羧基谷氨酸)区、EGF(上皮生长因子)区、Kringle(环饼结构)区、Finger区、CF(接触因子)、类胰蛋白酶催化区。

许多大的蛋白质在结构上往往都有重复的序列出现，尽管对它们的功能还不是很清楚，习惯上也称之为结构域。从基因水平看，DNA序列中的内含子都位于各结构域之间。

3.1.2 生物活性肽

生物活性肽，通过内分泌、旁分泌、神经内分泌、乃至神经分泌等作用方式行使其微妙的传讯功能。它们含量极微而生物活性却很强，对生物体内环境的恒定起关键性的调节作用。生命科学中的许多重要课题，如细胞分化、免疫、应急反应、肿瘤、衰老、生殖、生物钟以及分子进化等都涉及有关的活性多肽，因此这方面的研究不仅在理论上，而且在应用上都有重要意义。它的类似物、拮抗物以及模拟物都是潜在的重要药物。由于内源性药物的副反应较少，因此近年来发展很快。随着各种新的神经肽、生长因子、组织激肽的不断发现，多肽生物学正以新的面貌跨学科迅猛地发展，除以往研究较多的各种下丘脑释放及抑制因子、垂体多肽、胃肠道活性肽、组织激肽外，下面将特别讨论一些近年来国际上受重视的活性多肽。

(1) 神经肽

自1975年休斯(Hughes)等人从脑中分离纯化了两个脑啡肽以来，目前对神经肽的种类分布、作用特征、分析手段和生理意义各方面都已积累了丰富的资料。各种高级神经活动都与神经肽有密切关系。神经肽可以是信息传递者，也可以是神经调质。无论痛觉或愉快感、睡眠或亢奋、学习和记忆、进食和渴饮、以至神经系统本身的分化及发育都受神经肽的影响。

一些功能不同的神经肽在结构上相似，其原因可能是：系统发育上基因的突变，或者是mRNA在成熟过程中在各自器官内的特异加工，如P物质和K物质原处于同一基因组，但在脑内和周边加工出各自的成熟mRNA，造成两者的不同分布，再有可能是

某些神经肽可以激肽方式产生，如 AVP4—8 失去了其母体 AVP 的周边加压或抗利尿功能，却对中枢神经系统有上百倍的促记忆功效。

(2) 细胞素

细胞素是另一类细胞间的调控因子，与激素多肽相似，它们也是信息多肽，但多数属自主分泌或旁分泌性质，自细胞分泌后通过体液介导与靶细胞受体结合，从而调节受体细胞的生长或分化。血液和淋巴内各类细胞都有各自独特的细胞因子，如白细胞介素就已被发现 8—10 种之多，功能各不相同。由于体液内各种多肽因子共存，同一细胞上不同种受体共存，活性肽的相互影响和共同作用决定了最后的生物效应。

(3) 免疫多肽

借助计算机，人们已合成了许多抗原性多肽，作为预防或治疗某些疾病的药物。如合成的 hCG C 端重复序列 74 肽的抗早孕效果已在狒狒身上试验证实，乙型肝炎表面抗原多肽、口蹄疫病毒表面蛋白片段、疟疾原虫抗原多肽等都显示出很好的前景。在对爱滋病病毒作用机理研究的基础上合成了三种多肽：①合成可溶性的 CD4 结合区，以减少病毒向活细胞 CD4 受体的攻击；②合成二个外壳蛋白 (GP120, GP41) 的保守区，是一段两亲性螺旋，可以与 CD4 结合从而降低感染颗粒上反转录酶的活力；③合成外壳蛋白水解酶，以抑制病毒活性蛋白的成熟过程。

(4) 内皮素 (endothelin)

1988 年耶那奇沙瓦 (Yanagisawa) 等在内皮细胞培养中发现

一种平滑肌收缩物质,为含有两对硫硫键的 21 肽,是至今已知的最强缩血管活质,较之血管紧张肽的活性高 10 倍以上。已知体内有三种内皮素类似物分布于体内各种组织。

随着研究的深入,生物活性肽的生物学意义将愈来愈显得重要,估计今后还将不断发现类似细胞素那种旁分泌或自分泌的重要活性肽,并像脑啡肽和心房肽的发现一样给学科发展带来重大影响。

3.1.3 蛋白质与核酸的相互作用

蛋白质是基因表达的产物,基因表达又离不开蛋白质,两者相互依存,相互制约。蛋白质与核酸的相互作用存在于基因表达的各个水平上,也即基因的复制、转录和翻译。其分子机理的核心是蛋白质与核酸的专一识别和相互作用。

(1) 蛋白质与 DNA 的相互作用

DNA 复制过程中,链的引发、延伸、终止所涉及的反应都由相应的酶催化,同时还需要许多具有调节功能的蛋白质对 DNA 复制进行调节。通过对一些 DNA 结合蛋白及其相应的 DNA 片段的复合物,如大肠杆菌 DNA 聚合酶 I、限制性内切酶 ECoR I、组蛋白及其复合物等的三维结构的测定,已经积累了一些知识。目前了解得最为详细的还是一系列基因转录调节蛋白及其与 DNA 的复合物。现至少已有 7 个阻遏蛋白和 5 个阻遏蛋白复合物的三维结构得到测定。因而揭示了蛋白质与 DNA 识别和相互作用的一些规律:①调控蛋白是通过处于分子表面的一对二重相关的 α 螺旋与 DNA 识别并结合。迄今所知的调控蛋白的结构中都具有相同的构象,彼此倾斜,中心距离约 34 \AA ,以螺旋-转折-螺旋的

模式参与识别和结合。②位置专一的识别主要涉及 α_3 螺旋，它位于 DNA 的主槽中，通过氨基酸残基的侧链进行识别和结合。 α_2 螺旋的 N 端主链和侧链与 DNA 磷酸酯链相互作用，参与识别和结合。③DNA 主要以 B 型构象参与结合，但在结合过程中有扭曲变形。真核生物转录调控蛋白与 DNA 识别和结合的模式包括三种类型：①螺旋-转折-螺旋：两段螺旋被一 β 转折分开，其中一段为“识别螺旋”，直接与暴露在 DNA 主槽中的碱基接触。②锌指模块：单个 Zn^{2+} 与半胱氨酸、组氨酸残基配位，在两配位位置之间有 13 个残基的肽段像手指一样伸出。每个锌指可与核酸上含有多个连续鸟嘌呤的 5 至 6 个碱基对相结合，大约为 DNA 双螺旋的半圈。③亮氨酸拉链式模块：两段 α 螺旋在对侧相间排列 4 至 5 个亮氨酸残基，其疏水侧链交错对插形成拉链式结构。

(2) 蛋白质与 RNA 的相互作用

RNA 病毒是研究蛋白质-RNA 相互作用的很好模型，但是由于 RNA 结构柔性，在大多数已经测定结构的病毒中 RNA 都是不能被观察到的。近来研究豆荚斑纹病毒时观察到了 RNA 的结构，提供了蛋白质-RNA 相互作用的一些信息。

tRNA 合成酶与 tRNA 相互作用。斯德尔兹 (Steltz) 报道了 tRNA^{Gln} 合成酶-tRNA^{Gln}-ATP 复合物的晶体结构，首先直接看到 tRNA 合成酶与 tRNA 分子的结合与作用，从而了解二者专一识别的机理。这是遗传密码翻译中的关键一步。因为遗传密码的翻译如果需要字典，它就存在于 tRNA 合成酶与同类 tRNA 分子的专一识别中，有人称它为“第二遗传密码”。上述研究成果为“第二遗传密码”的解译奠定了坚实的基础，为这一领域的一个里程碑。

(3) 核蛋白体三维结构

蛋白质生物合成时,氨基酸按特定序列在核蛋白体上装配成为多肽链。核蛋白体是包括复杂的核酸-蛋白质相互作用的超分子体系。细菌核蛋白体的分子量约为 230 万,其中大亚基 (50S) 含 35 个不同的蛋白质和两条 RNA 链,小亚基 (30S) 含 21 个蛋白质和一条 RNA 链。最近活性核蛋白体颗粒已经获得结晶,并开始研究它的三维结构,这项工作可望在 90 年代获得突破。

3.1.4 多肽工程与蛋白质工程

多肽工程与蛋白质工程是 80 年代兴起并且发展十分迅速的领域。开始时主要是通过点突变来改造天然蛋白质,以后发展到蛋白质分子的全新设计 (denovo design) 以至非肽模拟。蛋白质的不同功能来源于它的空间结构,因此对蛋白质三维结构的知识以及结构与生物功能的关系是多肽、蛋白质工程的基础。多肽、蛋白质工程的发展最终将改变传统工业的高温、高压、高能耗的状况,从而成为节省能源的、比较温和与更加高效的生产方式。为了向这个目标迈进,已经开展并将继续作为研究方向的有以下几方面工作。

(1) 改造天然蛋白质

以已知的蛋白质结构-功能关系的知识为基础,改造天然蛋白质。这包括:①改善天然蛋白质的性能,如提高热稳定性、抗氧化能力、改变最适作用 pH、提高酶的催化效率等。②通过分子剪裁或残基置换,使天然蛋白质获得新的性质,如新的抗体特征、酶的新的底物专一性或辅酶专一性等。

(2) 蛋白质构象预测

蛋白质构象的预测,即从已知序列来预测蛋白质的构象,这是进行天然蛋白质分子改造与设计新的多肽与蛋白质的基础。目前预测蛋白质二级结构的方法至少有 20 种,准确率在 60—80% 左右。三维结构的预测还没有有效的方法,准确率一般都比较低,只有在对同源蛋白质的预测中有效。这方面迫切需要新思想、新方法,以及更多的蛋白质三维结构知识的积累,特别是通过高分辨核磁共振技术的改进,积累大量蛋白质溶液构象和运动的知识,以用于三维结构的预测。

(3) 多肽与蛋白质分子全新设计

多肽与蛋白质分子的全新设计,即要合成一种预定空间结构的蛋白质,从而可以人工制造具有全新的化学性质、生物学活性或催化活性的蛋白质。要完成这个设想首先要使肽链定向卷曲和集合成球状,除了按侧链个性安排残基序列外,还必须克服能障、提供合适的环境。计算表明,发夹结构是理想底板,两亲性螺旋似乎可提供肽链间相互疏水聚集的动力。1985 年默特尔 (Mutter) 通过分子相关样板计算系统模拟出一个理想化的结构能量最低的“多螺旋共舟”模型。该模型由 126 个氨基酸残基组成,通过合成得到含有 8 条两亲性螺旋分支及一个发夹结构底板的多肽,这样形成一个刚性和柔性结合的骨架,含有疏水内核和亲水表面,而活性基团可以根据设计而在空间任意定向。霍夫曼 (Hoffman) 最近报道了以糖环为底座、伸出四个活性基团的小分子,模拟生长激素释放抑制因子与受体结合部位,得到了部分成功。斯图尔德 (Steward) 已合成一模拟胰凝乳蛋白酶,为一分支

四螺旋多肽结构,其酶催化活性与天然的相比仅差两个数量级。另外有人已合成了钙选择性的离子通道,也是类似的全新合成产物。全新设计多肽与蛋白质分子可以按照人的意愿创造自然界不存在的而又能为人类所利用的功能蛋白质,随着对蛋白质结构与功能的深入了解,蛋白质分子设计必将以越来越快的速度得到发展,对生命科学将产生深刻的影响。

(4) 非肽模拟

利用非氨基酸作为结构元件来模拟多肽、蛋白质的功能称为非肽模拟。目前常用普通有机分子来搭建活性与构象都与某一活性肽类似的化合物。例如与脑啡肽在空间上“两苯环相互接近”模式相似的吗啡和苯并吗啡就都是阿片受体的激动剂。胆囊收缩素(CCK)的降解产物 CCK-4 的最低能量构象与麦角胺相似,而麦角胺具有与胆囊收缩素相同的中枢药理作用。CCK-4 的结构与胆囊收缩素的天然有机拮抗物——含吲哚环的 MSD 也很相似,进一步证明结构功能相似的类似物常具类似的空间特征,这对于今后新药设计、酶抑制剂和活性肽的研究将会有所借鉴。

3.2 酶学

酶学是蛋白质结构、功能和生物催化机理研究的结合。由于生物化学与分子生物学的每个领域都涉及酶学的理论和实验手段,因此酶学和蛋白质化学研究都是生物化学与分子生物学的基础分支学科。

3.2.1 酶学的两大突破性进展——酶活性 RNA 和抗体酶

80 年代以来, 酶学中具有突破性进展的是酶活性 RNA (ribozyme) 和抗体酶 (abzyme) 的发现。科罗拉多 (Colorado) 大学的切赫 (Cech) 等在研究原始的真核生物四膜虫 (*Tetrathymena*) 的 rRNA 加工过程中发现, 在没有任何蛋白质酶类的情况下, 该 rRNA 可以自身剪接加工, 并最终分离到一段具有催化活性的内含子 (IVS), 它具有转磷酸、转核苷酸和水解等多种催化功能。耶鲁 (Yale) 大学的奥特曼 (Altman) 也发现参与 tRNA 后加工的核糖核酸酶 P (RNase) 是由 M1RNA 和 C5 蛋白两部分组成的。起催化作用的是 RNA 组分, 而蛋白质只是表现调节作用的辅基。这一重大发现打破了酶是蛋白质的经典概念。抗体酶是继酶活性 RNA 后的又一重大发现。美国的莱纳 (Lerner) 等人在研究抗原抗体相互作用的机理中发现, 某些抗原决定簇并非原来就处于抗原分子的表面, 而是当抗原与抗体结合时才转位到抗原分子的表面。这种现象类似于酶与底物诱导契合。酶之所以能催化化学反应, 在于它和底物形成中间产物时提供了一个过渡态, 从而降低反应的活化能。而抗原和抗体的结合也可能有一个过渡态, 使抗原分子的某些化学键断裂或形成新的化学键。在此思想指导下, 特拉蒙塔罗 (Tramontano) 等人选择了一种在结构上与某些酯类水解反应的过渡态相类似的化合物作为半抗原制备单克隆抗体。发现此抗体竟能使酯的水解反应加速 1000 倍, 并具有酶的基本特征, 如底物特异性、pH 依赖性和可被抑制性等。推测其机理可能是抗体与此半抗原契合时, 使其形成类似于酶-底物过渡态的构象, 从而催化其水解。鉴于这类抗体兼有抗体 (anti-

body) 和酶 (enzyme) 的双重特性, 故命名为抗体酶 (abzyme)。进而舒茨 (Schultz) 等人又发现, 对硝基酚碳酸酯的过渡态类似物——对硝基酚磷酸胆碱的单克隆抗体可使上述碳酸酯的水解反应加速 15000 倍。可以预期, 抗体酶的技术将为酶的定向设计展现广泛前景, 如果能制造出对氨基酸序列有特异性的抗体酶, 限制性地切割不同氨基酸残基间的肽键, 则将对蛋白质结构的研究提供新的手段, 并且抗体酶的定向设计也开辟了一个不依赖于蛋白质工程的真正酶工程领域。

3.2.2 酶的结构和功能研究

(1) 蛋白质工程技术的应用

这是一种研究酶结构和功能关系的十分有效的方法, 它的许多优点是化学修饰和亲和标记所无可比拟的。用蛋白质工程技术可改变酶分子中任一氨基酸而观察其与功能的关系, 例如改变磷酸化或糖化位点, 研究磷酸化和糖化对酶结构和功能的影响。

(2) 酶蛋白空间构象的研究

物理学技术的引进使酶空间构象的研究进入更高的水平。荧光淬灭法测量活性中心基团能量的转移可计算出相应基团的空间距离, 圆二色谱、谱核磁共振等研究结合晶体 X 射线衍射方法, 已可描绘出酶蛋白详细的立体构象, 籍以进行分子的解剖而开辟了分子拓扑学。

3.2.3 固相化酶和生物传感器

60 年代后期兴起的固定化酶技术, 在工农业和医学中实际应用的巨大效益已受到科学界和产业界的注意, 在食品、轻化及制

药行业已获得较多的应用。高效率生产果葡糖、氨基酸、有机酸、酒精、青霉素、头孢霉素等。选择各种材料,如陶瓷、氧化铝、纤维素、琼脂糖、聚丙烯酰胺、聚氨酯等作为酶的固定化载体。建立在吸附、共价结合、交联、包埋等物理和化学原理基础上的各种方法已被用来将酶固定化在载体上或载体内。今天人们已能根据应用目的和酶的特性,选择合适的固定化方法和载体。固相酶的理论研究也因需要而获得发展,诸如固相酶的稳定性、动力学、底物专一性的改变等都已有不少报道和研究。通过固相化,使酶在有机溶剂中的催化成为可能,有机化合物的不对称水解、不对称合成、氧化还原反应和加成反应都有可能用固相化酶在温和条件下催化。并且在单一酶固相化的基础上,发展了多酶体系的共固相化,如天冬氨酸酶和天冬氨酸脱羧酶的共固相化可从延胡索酸生产L-丙氨酸。近几年来又进一步建立了固相活细胞技术,使细胞能在载体上生长繁殖,并能将细胞生长期和生产期分开,延长生产期,使用后衰减的生产能力还可再生,如利用固相化酵母细胞生产酒精和啤酒已在国内外应用。为了生产高等生物体内某些具有经济价值的酶、激素、免疫化合物、生物碱、色素和香料等,又从固定化微生物细胞发展至难度较高的固定化动植物细胞。各种微载体和大孔胶材料为贴壁的动物细胞提供了较大的比表面,如琼脂糖凝胶、海藻酸聚赖氨酸微囊和中孔纤维可用来包埋贴壁细胞和悬浮细胞。已有报道应用固定化动物细胞生产单克隆抗体、干扰素和乙肝疫苗等。利用固相化植物细胞,从简单碳源合成生物碱或进行生物碱等药物中间体的转化,也有不少成功的例子。

固相酶技术的发展使生物传感器应运而生。生物传感器是具有专一识别功能的生物材料(如酶),是基于化学或物理学原理的

换能检测装置结合而构成的,酶电极就是最早期的生物传感器。目前约有 10 种可用于临床生化测定的酶电极商品化,分别可测定葡萄糖、尿素、尿酸、乳酸和谷氨酸等。近几年来,生物传感器的发展十分迅速,有专一识别能力的生物材料已从酶发展到抗体、受体、细胞器甚至细胞组成功能元件,换能检测器也从电极(气敏、离子敏)发展到离子敏场效应晶体管、热敏电阻器、发光二极管、光纤和石英压电振荡器,能把各种化学信息转变成电信号加以度量。目前生物传感器的主要趋向是微型化和多功能化,并发展成生物芯片,把具有信息传递、记忆、分子识别、能量传递和放大功能的生物分子组成像集成电路那样的芯片,这将促进未来的生物电脑的出现。

3.3 核酸化学

3.3.1 核酸研究的中心课题

核酸是一类重要的生物活性大分子。40 年代艾弗里(Avery)等人发现遗传物质是核酸,1953 年沃森和克里克创立了 DNA 双螺旋结构学说,奠定了现代分子生物学的基础。此后,随着学科的发展,衍生出了分子遗传学和基因工程。30 多年来核酸研究方面的科学家 15 次获得了诺贝尔化学奖或生理医学奖,几占总颁奖数的四分之一。这也说明了核酸研究的重要和发展的迅速。当前核酸研究已经成为生物化学与分子生物学的一个重要分支领域,并且渗透到生物学的各个领域。

3.3.2 核酸研究的新动向

80 年代以来,核酸研究的新动向有四个方面:一是 RNA 的

研究又趋活跃,不断有新的发现。如酶活性 RNA 的发现,打破了“酶就是蛋白质”的经典概念,并提示着生命起源过程中曾经有过一个 RNA 世界。RNA 曾经既携带遗传信息,又具有催化活性。再如 RNA 编辑机制的发现是对中心法则的一个非常重要的补充。一个基因在不同组织或不同生理状态下,从不同转录起始位点开始转录、不同的剪接方式和不同的 3'端成熟而形成多种不同的蛋白,这是比基因重排更为灵活的调控方式。RNA 的应用前景也日益宽广。如酶活性 RNA 阻断各种有害基因的表达、反义核酸的应用等。因此,有人称 20 世纪 90 年代是 RNA 的十年。

核酸研究的第二个动向,是研究的材料从 80 年代前的主要为原核生物转向为真核生物。在真核生物中,DNA 复制、RNA 转录及前体加工、蛋白质的生物合成,都比原核生物复杂得多。尽管真核生物的基因表达调控尚未完全阐明,但研究材料的改变已经导致了如酶活性 RNA、RNA 编辑、mRNA 前体剪接、DNA 聚合酶等一系列重要发现,大大推动了核酸研究的发展。

核酸研究的第三个动向,是核酸与核酸、核酸与其他生物大分子的相互作用越来越引起人们的重视。事实上,生物体内的绝大多数核酸一直处于核酸与蛋白质、核酸与核酸、核酸与其他生物大分子的复合物中,其各种生物功能也是在复杂的核蛋白体中完成的。如在基因转录的起始过程,涉及很多核酸与蛋白质、蛋白质与蛋白质间的相互作用。不同基因的表达受不同组合蛋白因子的协同调节控制。真核基因转录调控的研究正集中在顺式作用元件(cis-acting elements)和反式作用因子(trans-acting factor),以及它们的相互作用等方面。顺式作用元件包括转录起始位点及其上游的约 30bp 处的 TATA 盒,上游几百碱基对处的 CCAAT 序列或 GGGCGG 序列(GC 盒),或其他特异基因的调控

序列。有的基因中有抑制子 (silencer)。反式作用因子分两类：结合 TATA 盒附近核苷酸序列的称转录因子，有 TFⅠA、ⅠB、ⅠD、ⅠE 等；结合上游调控序列的称为转录调控因子，如 SP1、CTF、AP1、AP2、Oct-1、Oct-2、CRER 等。已被分离纯化或鉴定的蛋白质因子有几百种，新的因子还在不断地被发现。反式作用因子通过与顺式元件结合起调控作用。一些甾体激素进入靶细胞后与受体结合，引发一系列核酸与蛋白质、蛋白质与蛋白质的相互作用，最后调控基因的表达。核酸结合蛋白的结构特点参见本书蛋白质与多肽部分。核糖体的结构与功能、tRNA 与氨酰 tRNA 合成酶的相互作用一直是研究核酸蛋白质相互作用的两个重要对象。近来又形成剪接体 (spliceosome)、核不均一核糖核蛋白体 (hnRNP)、核小分子核糖核蛋白体 (snRNP)、编辑体 (editosome) 等研究热点。

最后一点，是生物科学已经历了从生物整体水平研究向分子水平研究的转移，近年来一些研究又开始从分子水平研究转向整体与分子水平研究结合的阶段。比如果蝇的发育受调控基因网络的控制，一些实验室正在以整体与分子水平研究结合的方式研究这一问题。核酸研究在这第二次转移中正在并且将继续发挥重要作用。

3.3.3 核酸的结构

自从霍莱 (Holley) 于 1965 年测出酵母丙氨酸 tRNA 的结构以来，已经获得了 15000 多种核酸的序列。目前已阐明的最长的连续 DNA 序列有 100000 碱基对。目前新的 DNA、RNA 序列测定方法还在不断出现，改进主要在于非随机法测定 DNA 序列的战略（我国科学家在这方面作出了较多贡献），序列测定的自动化

(如荧光染料代替放射性同位素标记;激光扫描检测、计算机数据分析,一种由六个固定化酶串联,通过检测不同 dNTP 进入时聚合酶反应释放出来的焦磷酸,测定 DNA 序列的方法可能更有利于测序的自动化;一种新的 RNA、DNA 序列测定的通用方法已有报道),以及其他各种技术的改进(载体、新试剂、新的电泳装置)等。自动化序列测定仪的错读机率已经大为降低,但是按照人类基因组计划提出的测序要求,序列测定方法还需进一步的发展。

生物体基因组 DNA 作图与序列测定是 90 年代科学的一大课题。美国国家科学研究委员会耗时 15 年、耗资 30 亿美元的人类基因组计划已经启动 4 年,该计划将在 15 年内完成人类基因组全部 30 亿核苷酸序列的作图与测序,以期给人类生物学提供一个永恒的数据库,而对生物学和医学研究的价值将随着对它的分析、研究和实验的深入开展而提高。不少国家还对一些重要农作物例如水稻、烟草的基因组开展研究。当然,仅仅得出全序列也只不过是硬件配置的了解,还必须通过各种途径,包括与其他模型生物基因组的比较,才能逐步解出重要的信息。

近年来发现 DNA 有精细结构。合成寡核苷酸链的单晶 X 射线衍射研究表明,A 型、B 型或 Z 型 DNA 都是不均匀的。螺旋参数随碱基序列不同而在一定范围内变化。高分辨率的核磁共振可以研究水溶液中 DNA 片段的精细结构。结果也同样表明 DNA 确有精细结构。它是蛋白质和其他生物活性分子识别 DNA 的结构基础。根据 DNA 的精细结构已能较好的解释 Pribnow 盒、Hogness 盒等 DNA 原件的结构与功能的关系。

扫描隧道显微镜 (STM) 可以测定分子的表面结构,特别适应于不易得到结晶的样品分析。STM 已开始用于生物学研究。我

国科学工作者用 STM 观察了 tRNA 的倒 L 型结构, DNA 的 B 型、Z 型及三链发辫型等结构, 观察了 DNA 与蛋白质的相互作用, 发现了 DNA 复制过程中的构型改变。

近年来发现 RNA 中有假结结构。它是由茎环结构单链区相互作用形成带有两茎两环的连续螺旋。两个单链环突在连续螺旋外, 因此更容易被单链结合蛋白识别。假结结构在某些翻译调控、mRNA 翻译的跳跃以及酶活性 RNA 等方面均有作用。

3.3.4 DNA 的复制

DNA 复制研究的目的是探索生物体繁殖的机理。原核生物 DNA 复制研究已经取得很大的进展。DNA 合成过程与 DNA 聚合酶已研究得比较清楚, 而 DNA 复制的调控还知道得不多。真核生物 DNA 复制研究则差距较大。80 年代后期真核生物 DNA 复制研究有所突破, 形成新的热点。

DNA 合成过程包括引发、新生 DNA 链延伸、终止等步骤。DNA 合成的开始要有一段 RNA 作引物。RNA 引物的合成机理是当前 DNA 复制研究的一个重要方面。合成引物的酶称引发酶 (primase), 大肠杆菌引发酶与近 20 条多肽链一起组成多功能的引发体 (primosome), 不同生物的引发酶差别很大, 作用机理亦不尽相同。现在还不清楚引发酶如何识别启动子以及如何终止引物的合成。

新生 DNA 链的延伸在 DNA 聚合酶及附属因子的作用下完成。DNA 聚合酶及附属因子的研究是 DNA 复制研究的另一重要方面, 包括酶与附属因子的分离、纯化及体外重建 DNA 复制体系; 酶及附属因子基因的研究; 酶的结构与构象; 酶反应的物理化学等。在 DNA 链延伸过程中, 还存在 DNA 聚合酶催化 DNA

合成的真实性、DNA 合成效率及 DNA 合成酶的催化反应的进行性、复制叉前进时双链的解开及超螺旋松开与引入等问题。DNA 合成的真实性依赖 DNA 聚合酶的“碱基选择”和“校正阅读”作用。碱基选择的作用机理是目前研究的热点之一。校正阅读由 DNA 聚合酶 3'—5' 外切活性承担，这在原核生物中早已有证据。近年已证明真核生物的具 3'—5' 外切活性的 DNA 聚合酶，是细胞 DNA 复制的酶。DNA 聚合酶催化 DNA 合成的进行性高低与它的生物功能有关。如大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 合成进行性较低，它的主要功能是 DNA 的修复；聚合酶 III 合成进行性高，主要功能是 DNA 的复制。合成进行性高的真核 DNA 聚合酶，催化合成前导链；合成进行性低的 DNA 聚合酶，催化合成后随链。DNA 聚合酶合成进行性常取决于某一亚基或附属因子。复制叉前进时双链的解开涉及拓扑异构酶、解链酶、单链结合蛋白等。在复制叉处有一个包括两个 DNA 聚合酶的复制体。该复合体随着复制叉的前进方向一起前进，分别合成前导链和后随链。后随链合成时通过成环使 DNA 链的延伸方向与复制叉的前进方向保持一致。合成一定长度后环解开，又在近复制叉处形成新环。

染色体 DNA 复制如何起始还很不清楚。大肠杆菌的带复制起点 (oric) 区域的质粒研究表明，很多蛋白参与了复制的起始。噬菌体等复制起始研究表明，它们各自有自己的调控机理。现正利用病毒 DNA 作模型研究真核生物基因复制的起始。

真核生物染色体端区有重复序列，由端聚酶加以延长。端聚酶是一种含 RNA 模板的反转录酶，初步研究表明染色体端区重复序列长短与细胞生理状态有关。

真核生物染色体的复制元件包括复制起始序列、着丝粒及端区重复序列，包括这些元件的人造染色体可作为大容量的基因库

载体。

3.3.5 RNA 的转录后加工

RNA 的转录是核酸研究的另一个重要方面。近年来的进展主要是在真核系统。转录调控更是核酸、分子遗传以及蛋白质多肽研究的热点。真核生物具有多种 RNA 聚合酶以催化不同 RNA 的转录。酵母 RNA 聚合酶 II（即参与 mRNA 转录的酶）的组成已经基本清楚，它由十个亚基所组成，可分成三组，即酵母三种 RNA 聚合酶共有的、RNA 聚合酶 I 特有的和不必需的。真核生物的转录还需很多转录因子的参与。转录调控主要通过各种蛋白因子结合 DNA 上的各种元件来达到。

有很多 RNA 初始转录物必须经过后加工过程才能成为有生物活性的成熟 RNA。真核生物 RNA 后加工过程比原核生物更为复杂。原核生物中转录与翻译是偶联的，mRNA 一般不需加工。而在真核生物中，mRNA 的初始转录物必须经过 5' 端加帽式结构、3' 端的成熟、剪接和腺苷甲基化，有的还需要经过编辑等多步加工过程。成熟的 mRNA 通过核膜进入细胞质才能被核糖体识别和翻译。后加工与运输是真核基因表达的重要调控点，因此也是当前研究的热点之一。不同的核酸有不同的加工过程。与 mRNA 前体加工不同，原核 tRNA 前体需经过剪切、内部修饰等多步加工，有些还需加 CCA 末端。真核 tRNA 前体除上述三个加工过程外，有些还需要进行剪接。rRNA 前体的加工包括剪切、修饰两步。四膜虫大核 rRNA 前体还需经过剪接过程。同样的加工过程，在不同 RNA 中或不同细胞中，反应的机理也不同。tRNA 前体的剪接有植物方式或动物方式两种，但反应都是由内切核酸酶切去间插顺序，由连接酶把两个外显子连接成成熟的整分子。四膜虫大核

rRNA 前体及线粒体内第一组和第二组 RNA 的剪接都是通过自我剪接机理。真核生物核内 mRNA 前体的剪接,在反应历程方面,与线粒体第二组 RNA 剪接相似,但机理不同。

许多真核生物核内 mRNA 前体的拷贝区是不连续的,它们被一个或数个间插序列 (IVS) 所分开。间插序列通过剪接被除去。夏普 (Sharp) 于 80 年代中期提出细胞核 mRNA 前体在剪接体上经过套环结构中间产物而进行剪接的机理。剪接体至少由 U1、U2、U5、U4/6 四种细胞核小分子 RNA 与蛋白质的复合物 (snRNP) 以及 C1 和 C2 两种细胞核不均一核蛋白体蛋白参与组装而成。而线粒体 RNA 前体的剪接分属于 I 型和 II 型内含子的自我剪接。某些单基因的初始转录物可含有多个剪接位点,因而通过不同的剪接可以得到多种不同的蛋白。

mRNA 的编辑是 1986 年发现的一种新的加工方式。在锥虫线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 II 的 mRNA 中,存在着不同于其 DNA 序列的阅读框架。差异是由于初始转录物的某些位点被加入若干尿嘧啶核苷酸引起的。实验结果表明 mRNA 的编辑是 3' 端向 5' 端方向进行的,可以通过加入尿苷酸、删除尿苷酸、将胞苷酸转换成尿苷酸或将尿苷酸转换成胞苷酸、以及加鸟苷酸等多种方式来进行。近来发现 tRNA 编辑也可能存在。mRNA 的编辑可以发生在编码区、3' 端不翻译区和 PolyA 区。但没有发现所有上述区域均被编辑的。编码区的编辑可以引起阅读框架的开放或关闭、移码、增加信息、改变 mRNA 与核糖体的结合状态、改变密码子的种类等功能。在锥虫线粒体细胞色素氧化酶亚基 III 的 mRNA 中,因编辑增加了 376 个核苷酸,占该 mRNA 总编码区长度的 55%。因此该基因被称为隐匿基因 (crypto-gene)。近年来在锥虫中找到一些小于 80 核苷酸的指导 RNA (gRNA),是由其他基

因编码的。gRNA 有 5' 端锚式结构和 3' 端寡聚尿苷酸结构。它被作为编辑的模板,反应的历程类似于四膜虫酶活性 RNA 的方式。因此切赫 (Cech) 认为 RNA 编辑可能是最小的插入序列。其他几种编辑的机理还不清楚。

3' 端的成熟有两种方式:组蛋白 mRNA 前体只需要切去 3' 端多余序列,其他 mRNA 前体则还需加上 PolyA 末端。

3.3.6 蛋白质生物合成

tRNA 在蛋白质生物合成中起着把 mRNA 的遗传信息翻译成氨基酸序列的关键性作用。到 1990 年底,已经测定序列的 tRNA 及 tRNA 基因有 1710 个。tRNA 含有大量的修饰核苷酸,已发现的修饰核苷酸超过 50 种,它们的生物功能是 tRNA 研究的一个重要方面。在 tRNA 与氨酰 tRNA 合成酶的相互识别中,对某些 tRNA 来说,1—2 个核苷酸的改变就可以造成识别的改变。这被称为 tRNA 的个性 (identity)。我国科学工作者在酵母丙氨酸 tRNA 与合成酶识别时的结构需要方面,及该 tRNA 分子中修饰核苷酸在蛋白质生物合成中的作用方面做了大量工作。

tRNA 在蛋白质生物合成过程中与其他核酸和蛋白质发生相互作用。tRNA 反密码子与 mRNA 密码子的相互配对,除遵循碱基配对原则外,还可能受 tRNA 分子中其他部分核苷酸、mRNA 上的其他序列以及核糖体识别的影响。

近年来发现 tRNA 尚有一些其他功能,诸如与谷氨酰 tRNA 和叶绿素的生物合成有关;含硒的 tRNA 可以促进 mRNA 的翻译;反转录病毒在反转录时需要 tRNA 作引物;在蛋白质 N 端加一个氨基酸残基;合成氨酰磷酸酯酰甘油;依赖泛酸的动物蛋白质降解需要氨酰 tRNA;合成脂多糖;合成细菌细胞壁;含硒氨基

酸的合成以及含硒蛋白质的生物合成需要特殊的以 UAG 为密码子的 tRNA 等。

核糖体是细胞合成蛋白质的场所。早先的模型认为核糖体只有两个 tRNA 结合位点：A 位为氨酰 tRNA 结合位点，P 位为肽酰 tRNA 结合位点。近来的三点模型认为核糖体上有三个 tRNA 结合位点。除 A、P 两个位点外，还有一个 E 位即 tRNA 出口位。按新的模型，肽键形成时，原来在 P 位的空载 tRNA 并不立即从核糖体上解离下来，而是移位到 E 上。当新的氨酰 tRNA 结合 A 位时，核糖体构象发生改变，E 位的空载 tRNA 才解离下来。构象的改变提高了对氨酰 tRNA 的识别作用，从而提高了蛋白质合成的正确性。整个过程涉及到 200 多种生物大分子的协同作用，各种蛋白质与 RNA 的具体作用目前尚不甚了解。大肠杆菌核糖体有三种 RNA (5S, 16S, 23S) 和 50 多种蛋白质，它们的序列已全部被测定。诺勒(Noller)等提出了一个被广泛接受的 16S rRNA 二级结构模型。嗜热杆菌核糖体结晶已获得成功，为核糖体高级结构的研究创造了条件。赫尔(Herr)等认为大肠杆菌核糖体的两个亚基之间的结合主要靠 16S 与 23S rRNA 之间的碱基配对来实现；实验表明 16SrRNA 的一个含 790 个核苷酸的环位于两个亚基相接触的平面上。在 16SrRNA 中有三个区域可因与 tRNA 的结合而被保护。它们是核糖体上 mRNA 和 tRNA 的结合部位，亦即核糖体解码部位。23SrRNA 的区域 V 与肽基转移酶有关。区域 V 的中心环上许多保守的核苷酸序列代表了 A 位、P 位和 E 位。

植物毒蛋白对真核细胞蛋白质生物合成的抑制作用主要是使核糖体失活。如帚曲霉素 (α -sarcin) 专一水解真核细胞 28S rRNA 4325 和 4326 位间的磷酸二酯键；蓖麻毒蛋白 (ricin)、天花

粉毒蛋白 (trichosanthin) 专一水解 28S rRNA 4324 位腺苷酸的糖苷键。虽然这些毒蛋白只导致一个化学键的断裂, 但已使核糖体完全失活。这说明了 rRNA 有着非常重要的生物功能。而在肽键合成的起始、延伸和终止阶段, rRNA 与 mRNA 也通过碱基配对而发生相互作用。

以前认为, mRNA 编码区内每三个核苷酸编码一个氨基酸, 密码子间没有停顿间隔, 但近来却发现有些情况下翻译过程可以发生跳跃; 可以向回跳, 使某些核苷酸被阅读两次; 也可以向前跳, 使某些区域不被翻译。一种观点是发生跳跃的区域常可形成假结结构。核糖体从假结结构的一个单链环上可轻易地跳到另一个单链环上。

真核生物蛋白质合成的短期调控发生在翻译的起始阶段。合成起始阶段包括几个过程: 核糖体解离成大小亚基; eIF、GTP 和甲硫氨酰起始 tRNA 形成三元复合物; 三元复合物与 40S 小亚基结合形成 43S 起始复合体; 43S 起始复合体与 mRNA 结合形成 48S 起始复合体; 48S 起始复合体与 60S 大亚基结合形成 80S 起始复合体。整个过程需要十个以上的不同起始因子协同而有序的作用。

核糖体对起始密码子的识别, 一般认为是核糖体亚基在 mRNA 上扫描完成的。近来, 索尔伦堡 (Sonenberg) 认为 mRNA 首先与 eIF-4B 结合, 再与 43S 起始复合物结合, eIF-4B 在 mRNA 5' 端区扫描发现起始密码子, 进而使核糖体亚基与 mRNA 结合到合适的部位。但是最近有一些实验表明, 有一些 mRNA 并不遵循上述扫描机理。核糖体并不扫描 mRNA 的 5' 端区而直接与 mRNA 内部的起始密码子结合并开始翻译。

大多数真核 mRNA 具有 5' 帽式结构, 它与 mRNA 的蛋白质

合成效率有密切的关系。已知 eIF-4E 和 eIF-4F 参与对帽式结构的识别, 并且这种识别可能是肽链起始的总的调控方式。网织红细胞在缺少血红素时, 肽链的起始即被特异性地阻断。一般认为 eIF-2 和 GEF 的相对含量是控制肽链起始的关键。

3.3.7 反义核酸与酶活性 RNA

反义 RNA 发现于 1983 年, 尽管 1969 年就已观察到 λ 噬菌体 DNA 同一区段的双链都被转录。天然存在的反义 RNA 只是相当短的序列, 但也有相当长的反义 RNA。它们是正链 RNA 的互补链, 是生物体内的一种重要调控物质, 可在多层次上进行调控。例如抑制质粒的复制、调节细菌内质粒的拷贝数, 阻止两种类似质粒在同一细胞内存在。反义 RNA 可以在转录和翻译水平上调控细菌和噬菌体基因的表达。虽然至今没有直接证据表明真核生物中存在反义 RNA, 但有迹象表明真核生物内亦有反义 RNA, 并主要在翻译水平上进行调控。

反义 RNA 的发现使人们找到了一条通过调节病毒或癌基因表达来控制、治疗病毒病或恶性肿瘤的可能途径。方法可以是把反义基因导入细胞, 细胞可以转录出反义 RNA。或是用人工合成的寡聚核酸直接导入生物体内。反义核酸作用的机理主要有位阻(可以分别抑制翻译、转录和转录后加工)、核糖核酸酶 H 降解与反义 DNA 互补的病毒 RNA 以及还不清楚的非序列特异性机理、反义核酸与 DNA 双链结合成三链形式而影响转录等。此外, 双链 DNA 与共价连接 EDTA/Fe、氯乙胺等衍生物的反义核酸形成三链结构后, 可被修饰或降解。近年来, 用寡聚反义核酸直接导入细胞以抑制艾滋病病毒的研究发展极快。我国用反义核酸直接导入小鼠抑制小鼠白血病病毒的生长也已成功。研究多着眼于合成

不易被降解的核酸类似物，选择反义核酸的攻击位点以及导入方法等。

酶活性 RNA 实际上也是反义 RNA 的一种。切赫和奥特曼因 80 年代初发现酶活性 RNA 而获得 1989 年诺贝尔化学奖。几年来，已相继发现了几十种酶活性 RNA。按其作用底物，可分为自体催化和异体催化两类。按作用方式可分为剪切型 (cleavage) 和剪接型 (splicing)，催化 tRNA 前体 5 端成熟的核糖核酸酶 P 以及植物类病毒、拟病毒和卫星 RNA 的自我剪切属于前者；剪接型又可分为 I 型（如四膜虫 rRNA 前体及线粒体第一组 RNA 内含子）和 II 型（如线粒体第二组 RNA 内含子）。

各类酶活性 RNA 的一级结构中都有进化上高度保守的序列，这些序列与其催化活性有关。大多数已知具有自我剪切活力的 RNA 都能形成“锤头”状或“发夹”式的二级结构。四膜虫酶活性 RNA（即 rRNA 前体中的间插序列）的结构已比较清楚。它含有一个 G 结合位点，靠间插序列内的一个内部导引序列使 5' 端剪接位点、3' 端剪接位点以及 G 结合位点靠拢在一起。然后由 G 引发一连串的转酯反应而完成自我剪接。核糖核酸酶 P 作用机理中有一外部导引序列来决定酶切位点。

已知的酶活性 RNA 主要催化各类 RNA（包括 tRNA、rRNA 和 mRNA）前体的加工或参与类病毒、拟病毒和卫星 RNA 的复制过程。某些第一组内含子是可移动的元件。某些第二组内含子的编码蛋白与反转录病毒的反转录有关。

相当一部分酶活性 RNA 在体内处于核蛋白体内。尽管 RNA 与蛋白质结合可以提高催化效率，但在较高的阳离子浓度下，在试管内仅核酸部分就具催化活性。因此可以设想核糖体、snRNP 等核蛋白体的 RNA 也可能具有催化活力。

酶活性 RNA 的发现,表明 RNA 是一种既能携带遗传信息又有生物催化功能的生物大分子。因此很可能 RNA 是生命起源中首先出现的生物大分子,而一些有酶活性的内含子可能是生物进化过程中残存的“分子化石”。多尔特纳 (Doudna) 和索尔斯得克 (Szostak) 最近用四膜虫酶活性 RNA 把几个寡聚核糖核苷酸连接成与 RNA 模板互补的 42 核糖核苷酸。这个实验证明 RNA 具有自我复制的能力。可见,酶活性 RNA 的研究促进了分子水平上的生命起源的研究。

根据酶活性 RNA 结构与功能关系的研究,可以设计并人工合成自然界不存在的酶活性 RNA,一般都是按“锤头”结构模型设计合成。人工合成的最小酶活性 RNA 是十三聚核糖核苷酸。人工合成的酶活性 RNA 可以用来防治动植物、人类疾病。国外用酶活性 RNA 阻止艾滋病病毒的复制已获得初步结果。我国也已在体外用酶活性 RNA 成功地剪切了乙肝病毒、甲肝病毒、蚕核多角体病毒、鸡法氏囊病病毒及烟草斑纹病毒等核酸片段。

3.4 糖复合物

糖复合物包括糖蛋白、蛋白聚糖和糖脂三大类。直至本世纪 60 年代,糖复合物的研究才得到重视。特别是近二三十年来,发现大多数蛋白质都含有糖。糖蛋白中糖的含量差别很大,少则不足 1%,多者可达 90% 以上。在生物界普遍存在,出现在具有不同功能的蛋白质中,如酶、受体、激素及结构蛋白等。同时发现糖链担负着一些重要生理功能,如细胞粘着、生长、分化、识别等等,从而使糖复合物的研究成为当今的一项热门课题。近年来有机化学分析技术飞跃发展,解决了许多复合糖结构的测定困难。

测定细胞表面糖蛋白上的糖链全结构的技术已经发展起来，从而大大推动了此领域的研究。

3.4.1. 糖复合物的结构

糖复合物的结构从某种意义上说比蛋白质与核酸的结构还要复杂。蛋白质中氨基酸之间的连接形成一条没有分支的肽链，核酸中核苷酸之间连接也不形成分支；而单糖之间的结合可以有多种方式而且往往是分支的。过去测定一个复合糖结构，首先要制成衍生物，然后水解成单糖，最后用气相色谱-质谱仪定出单糖组成。再结合外切糖苷酶等方法推断出糖基顺序。这种方法样品的用量大，又费时。近年来推出了一系列新技术和新仪器，例如凝集素亲和柱，可以把复合糖分成几个类别，如果同时把复合糖标上放射性同位素或荧光物质，则可检出极微量物质。用凝集素亲和层析柱可分出糖蛋白上糖链的某些特性二天线、三天线、核心岩藻糖等，把它们和细胞的生长发育、癌变等联系起来可得到一些有意义的结果。

近年高压液相色谱（HPLC）也已广泛用于糖的分析。用HPLC可以对复合糖的单糖残基进行定性或定量分析。HPLC又用来分离和测定复合糖的结构。用2D-HPLC法，一相用逆相柱（ODS柱），另一相用氨酰吸附柱（AMIDE柱），可把层析行为十分接近的复合糖分开。如果同时有标准品对比，就有可能得出未知糖的结构。但是目前的标准品太少，积累标准品的数据成为当前十分关注的问题。

NMR技术不仅成为测定复合糖的空间结构，而且是复合糖结构定性的重要手段。由于它所显示的出峰图谱都相当稳定，所以各实验室之间所得结果容易比较。目前的问题仍是标准样品的

图谱太少。

NMR 可以测定溶液中样品的构象，因此复合糖和其受体或凝集素之间结合后的构象也可用 NMR 测定，这样就可从分子水平上研究结合机理，也可用来进行糖苷酶和糖苷转移酶催化机理的研究。

快原子轰击质谱是研究复合糖结构的另一种重要技术手段。

此外，应用生化方法研究复合糖结构也卓有成效。体内或体外放射性同位素标记，或用纯化的糖苷酶逐步降解复合糖以测定复合糖的“一级结构”，乃是沿用较久的分析方法。内切糖苷酶使糖链从蛋白质或糖脂上游离出来，便于糖链结构测定。目前已知的内切糖苷酶的种类不多，同时这些内切糖苷酶也只能选择性地对某些糖链有作用。更多地开发内切糖苷酶也是很重要的工作。

高度专一和高效价的单克隆抗体已被用于糖链结构的测定。小鼠似乎对糖链有较高的免疫反应性，因此许多针对糖复合物的单克隆抗体几乎有半数以上是针对糖链的，所以有可能用作糖链结构检测，例如单抗 R24 用以检测 GD3。

综上所述，由于近年来新技术、新方法的开发，使数百种糖链结构得以阐明，这一势头正方兴未艾，研究的深入必将大大促进糖复合物功能的了解。

3.4.2 糖链的合成代谢与糖苷转移酶

虽然近年来人们对糖链结构才有较深理解，可是糖链的合成代谢及分解代谢在 70 年代已具轮廓。核酸分子中的单核苷酸顺序是通过复制而子代相传；蛋白质分子中的氨基酸序列是以核酸为模板保持其正确的排列；糖复合物中糖基顺序是依赖糖苷转移酶逐个延伸。糖苷转移酶多数存在于高尔基体中，同时多数糖苷转

移酶有很高的底物专一性，催化特定的连接键，其在高尔基体中的分布一般认为有其一定的规律性。上述因素可能起着有序地将各个糖基加到糖链上的作用。

糖苷转移酶镶嵌于细胞膜中，需要去污剂助溶，含量少，稳定性极差，酶活性的检测十分烦琐，底物又不易获得，因此对它们的结构研究进展甚慢，近年来有了一些重要突破。至今已弄清了10余个酶的一级结构。由此发现糖苷转移酶在转录水平上得到调节酶；有些糖苷转移酶的活性受磷酸化与脱磷酸化调控。这些结果为今后研究糖链功能提供了十分有力的手段。纯化糖苷转移酶并弄清其氨基酸一级序列，是当今既热门又被视为畏途的课题。

溶酶体中富含各种糖苷酶，它们担负着水解糖链的功能。由于缺失某一种糖苷酶会造成一些先天性疾病，临床实践中的这一发现，曾促进了糖脂的研究。之后又发现糖蛋白上糖链末端的甘露糖-6-磷酸是一种信号，带有这一信号的蛋白质在高尔基体中合成后，将转移至溶酶体内。但是后来又发现并非所有溶酶体中蛋白质都带有这一信号，说明细胞内蛋白质定位于溶酶体还有其他机理。

3.4.3 糖链的功能

糖的种类及连接方式的高度多样性，表明糖蛋白和糖脂上的糖链可能编码大量信息。许多实验证明：糖链可以作为识别信号；细胞的不同分化阶段细胞表面糖链的表达也不同；癌细胞表面的糖链也不同于正常细胞；糖链也参与细胞的粘着；糖脂可以影响细胞的内存作用，也可能影响细胞膜中的受体或蛋白质的功能等等。

蛋白质分子上的糖链对蛋白质本身的影响是人们很感兴趣的

问题。糖对蛋白质的折叠、大分子装配、蛋白质构象稳定、细胞内定位、分泌出细胞等都尚待研究。有些糖蛋白当不含糖的时候，似乎还能很好地执行功能，但对另一些则糖基化是必要的，我们尚不了解这一差异的基础，还没有发现依存性的规律。

糖蛋白可能糖基化的位点常多于实际糖链数，这些特定的糖基化位点及特定糖基化位点上的糖链结构与蛋白质本身结构的关系以及和加工酶的底物专一性的关系等都是有待研究的课题。

对于功能的理解往往借助于对不同发育或分化阶段细胞糖链的分析，或是外加某种糖复合物于培养细胞中等手段。但是，这种静态的或外加因素的观察，其缺点很明显。如果人们能操纵机体及细胞内糖链的合成和加工，那末可能了解机体不同发生阶段糖链变化的意义，从而得出十分有意义的结果。这就需要发展更多的特异的糖苷转移酶抑制剂，或将糖苷转移酶基因转移到本来不表达的细胞中去，以观察糖链的影响。

3.4.4 凝集素

凝集素是一类能和糖类结合的非酶、非抗体的蛋白质。糖类作为信息分子的功能要通过糖类和蛋白质的相互作用而体现。因此，凝集素和糖类相互作用的研究就成了糖生物化学的一个重要方面。

凝集素的研究至今已有百余年的历史，纯化的植物凝集素已有百余种，测得一级结构的也有数十种。它们的氨基酸序列至少有30%的同源性。如果糖结合专一性相同，同源性可达70—80%。约有7种植物的凝集素的空间结构已被测定。它们高级结构的同源性超过一级结构的同源性。

动物凝集素的研究始于1968年。几类动物凝集素的糖结合性

与钙离子有关，它们都有一个约 130 个残基的糖识别域 (CRD)，此类凝集素中最引人注目的是与炎症的发生、肿瘤的转移有密切关系。如 S 动物凝集素与细胞分化以及组织形成有关。此外尚有 P 凝集素等与此有关。

3.5 生物膜

细胞外面有一层质膜包裹。真核细胞除质膜外，还有组成各种细胞器的膜，如线粒体膜、内质网系膜、溶酶体膜、高尔基体膜、核膜等。由于细胞内膜的存在，细胞被分隔成多个功能区域。

3.5.1 生物膜的结构

虽然不同的生物膜的基本结构均为脂双层，但由于其中所含的蛋白质和糖复合物等的不同，而具有不同的生物功能。过去用电镜、冰冻蚀刻、小角度 X 射线衍射研究膜结构获得了许多信息，并于 1972 年提出了“流体镶嵌”模型。近年更增加了电子顺磁共振、核磁共振等新技术，又提出了生物膜的“板块镶嵌”模型。认为整个膜可视为具有不同流动性的“微区”(domain) 相间隔的动态结构。

生物膜在一般条件下都呈现脂双层结构，但在某些生理条件下，如细胞内吞与外排、细胞融合、蛋白质跨膜运送等，均可出现非脂双层结构，如六角形及微团等结构。

据估计，细胞中大约有 20—50% 的蛋白质是与生物膜结构联系的。一些蛋白质穿插在膜中，如血型糖蛋白。近年对于光反应中心 X 射线晶体学的研究有了较好的进展，第一次成功地在原子水平上阐明了一个膜蛋白的结构，促进了对这个复合蛋白的了解。

需要更多这样的进展，才能推动对膜蛋白结构与功能的了解。

3.5.2 生物膜的功能

生物膜是生物分子的组装，是超分子结构。过去的研究已提供了大量有关各组装元件的功能，如受体蛋白、离子泵、离子通道、电子传递体系等，它们参与细胞识别、细胞粘着、传送功能、信息放大功能、电子传递功能等等。当今这方面的研究仍然受到很大关注。同时由于结构研究的快速进展，结构与功能的关系以及它们的作用机理也逐步得到了了解，例如乙酰胆碱受体的作用机理。

跨膜信息传递则已取得了很大成就。膜蛋白与膜脂的相互作用也有不少报道。

关于分子组装也已有很好的开端，诸如信号肽的发现、磷酸甘露糖残基的导向作用等等。

3.6 激素

激素是沟通细胞间与器官间的重要化学信使，通过内分泌、自分泌、旁分泌、神经内分泌等作用方式行使传讯功能，从而使机体组合成一系列高度严密的控制系统，调节生命的全过程。生物从受精卵开始，生长、发育、成熟乃至衰老，都受激素的影响和调节。激素作用的本质和活动规律的阐明，不仅对于生命科学具有重要的理论意义，而且对于人类的内分泌疾病（如糖尿病、脑垂体病和甲状腺病等）及非内分泌疾病（如心血管疾病、肿瘤、精神疾病等）的发病机理、临床诊断与治疗，对于实现人类计划生育，延缓衰老均有实际意义。动物激素研究对于家畜饲养、鱼类

增产以及植物激素研究对农业增产和农产品储存,均有广泛应用价值。此外,新型激素及生物活性肽类药品的研究也有良好应用前景。

3.6.1 新肽类激素的发现

近年来由于放射免疫组织化学、免疫细胞化学、高效液相层析和分子生物学技术等新方法、新技术的应用,大大加速了新肽类激素发现的速度。其中神经肽类激素、胃肠肽类激素、循环系统肽类激素以及肽生长因子尤为突出。迄今为止陆续发现的神经肽有 50 余种,如吗啡调节肽、催眠肽等;胃肠肽类激素已达 40 余种;循环系统肽类激素有数十种,如心钠素、血管紧张素、心律失常肽、内皮素等;肽类生长因子有 50 余种,如表皮生长因子、血小板衍生的生长因子、胰岛素样生长因子、成纤维细胞生长因子、神经生长因子等。此外还有胰抑素、甘丙素、降钙素基因相关肽 α 和 β 等。

3.6.2 肽类激素受体结构功能的研究

近年来由于分子生物学的飞速发展,提供了各种制备和纯化受体的新技术新方法。如单克隆抗体技术和亲和层析结合可得到纯度十分高的受体蛋白;利用突变细胞体外培养可增加细胞株上的受体数,而增加受体的来源;利用 DNA 重组技术获得神经递质和激素受体等,使受体的结构功能的研究成为可能。目前利用基因工程方法已确定多种受体蛋白如胰岛素受体 (IR)、上皮生长因子受体 (EGFR) 等的一级结构。进一步利用基因剪接和突变方法,把突变基因导入细胞中,得到含有不同突变受体的细胞株,利用受体的结构功能表达的关系,精细地确定受体蛋白的各个功

能部位，这是目前受体研究的十分活跃的领域，它将有力推动细胞识别、信号转导和调控的分子机理的研究。

配体与受体相互作用的生物化学过程的研究有赖于提供足够纯化的受体蛋白。用核磁共振技术和 X 射线衍射技术，研究配体与受体在溶液中或晶体三维结构中相互作用、缔合和解离过程，这对阐明受体的结构与功能的关系以及配体与受体相互作用的分子机理都是十分重要的。

目前已知膜受体的结构可分为胞外、跨膜和胞内三个片段。胞外片段被糖基化，而跨膜片段包含有疏水的螺旋结构。上皮生长因子受体、胰岛素受体及血小板衍生的生长因子是典型的具有胞质酪氨酸蛋白激酶（TPK）活力的简单跨膜受体。其胞外片段相对疏水，富含半胱氨酸残基，并且可能包含有配体结合与受体-受体间相互作用的部位。生长激素及促乳素属于不具有 TPK 活力的简单跨膜受体。多重跨膜受体已经确定的有两类，即单链七次跨膜受体与多链受体。前者与 G 蛋白偶联，如肾上腺素能受体可与 G_s 及 G_i 蛋白结合，蕈毒碱乙酰胆碱受体可与 G_o 蛋白结合。调节配体可与膜内疏水区结合。后者如 γ 氨基丁酸受体及烟碱乙酰胆碱受体乃配体控制的通道。现已了解绝大多数已知的受体是由不相互依赖的功能片段结构域组成的嵌入蛋白。如 EGF 受体的胞外片段具有配体结合与受体二聚化功能，跨膜片段具有嵌入质膜及负调（苏 654）功能膜内片段的 TPK 部分具有 ATP 结合（赖 721）、底物结合及催化功能，羧端尾部具有信号调节功能。由于受体的氨基酸序列的确定，目前已经能够对不同氨基酸残基在参与受体功能中的意义作出一些论断。

在探讨激素的受体拮抗物方面也有不少成果。近年来对肽类激素衍生物研究的结果发现，改变多肽的结构使其失去原有的激

素功能,但羧端片段仍能识别受体,这样的多肽衍生物往往可以作为该多肽的受体拮抗物。现已发现缩胆囊肽(CCK)、血管活性肠肽(VIP)、胰泌素、蛙皮素和P物质的一些衍生物就有这种作用。受体研究对一些新的生物分子和新合成药物的设计和评价作出了很大贡献。很多生物分子和药物可以利用与受体结合的方法进行筛选,并可以发现新的物质。例如脑啡肽就是在研究识别吗啡的阿片受体工作中发现的。人们通过进一步对分子结构的改造就有可能制成镇痛效果强但不能成瘾的药物。大脑的神经递质激素和其他物质的受体与学习、记忆、思维和情绪等密切相关。如脑中神经递质或其他活性物质的受体脱敏可引起机体反应迟滞和障碍。因此神经兴奋物和它的抑制剂与记忆和智能关系的研究也是受体研究的重大课题之一。

3.6.3 受体后信息转导机理的研究

肽类激素与靶细胞的受体结合后,其信号的转导机理可分为三类:①通过cAMP介导的激素有胰高血糖素、胰泌素、生长抑素、TRH、ACTH、FSH、TSH、LH、MSH、甲状旁腺激素、加压素(V_2)、催产素等。②经过PI、钙离子介导的激素有胃泌素、蛙皮素、ACTH、加压素、CCK等。③经酪氨酸激酶介导的激素有胰岛素、表皮生长因子等。

激素与膜受体结合后,引发细胞内信号物质的生成,其中包括第二信使: Ca^{2+} 、cAMP、甘油二酯、三磷酸肌醇(IP_3)、四磷酸肌醇(IP_4)等;然后经第二信使介导活化细胞内的一些蛋白激酶系统(依赖于cAMP的蛋白激酶、依赖于cGMP的蛋白激酶、依赖于 Ca^{2+} 钙调素的蛋白激酶、依赖于 Ca^{2+} 磷脂的蛋白激酶以及依赖于多胺的蛋白激酶)影响细胞内的蛋白质的磷酸化过程,产生

各种生理效应。当然调节蛋白质磷酸化过程的逆反应还有各种类型的蛋白磷酸酶（蛋白磷酸酶 1、2A、2B、2C 及酪氨酸蛋白磷酸酶）参与。近年来的研究表明，酪氨酸蛋白磷酸酶在信号传递过程中起关键作用。受体引导的蛋白质酪氨酸残基脱磷酸化作用可能是一种新的信号转导途径中所发生的早期事件。

目前对于激素及生长因子与受体相互作用后所产生的一系列复杂的反应过程，已比过去了解得更为详细，但反应过程相当复杂，其详细的分子反应过程有待进一步阐明，其终端效应物是哪些关键分子有待研究。此外各种类型蛋白激酶与蛋白磷酸酶的生理底物绝大多数尚不了解，也需进一步探索。

3.6.4 固醇类激素作用机理的研究

固醇类激素作用在于调控基因表达的假设，早在 60 年代初卡尔逊 (Karlson) 发现昆虫蜕皮素导致其巨染色体形态变化时已经提出。詹森 (Jensen) 等发现雌激素受体蛋白的存在后，提出了两步机理学说，即激素在靶细胞中以高亲和力专一性地结合特定的受体蛋白后，进入细胞核，与染色质结合，从而导致某些特定基因的激活或抑制。随后大量的工作都集中于各种激素受体的鉴定、提纯、结构功能分析，以及受激素调控的靶基因的分离与鉴定。借助于 DNA 重组克隆等分子遗传学新技术，最近五六年来几乎所有固醇类激素受体基因均得以克隆和序列测定，可以看到它们的结构有很大的同源性，形成一个所谓的固醇类受体超大家族。其成员除已知的固醇类受体外，还包括甲状腺素、维生素 D₃ 及视黄酸等的受体，某些癌基因如 *verbA*，甚至一些通过 cDNA 交叉杂交发现的配基不明的类似蛋白，它们的结构特征是都有三段保守性氨基酸组成：C 端有激素配基结合域，中间为保守性很强的

DNA 结合域, N 端的长度及氨基酸保守性较低, 一般认为是起转录增强作用的区域。与此同时, 受控靶基因的研究表明它们的 5' 端上游调控区具有对激素受体复合物起反应的顺式元件, 即所谓 HRE (hormone responsive element) 利用离体转录系统, 通过遗传工程技术, 特别是基因转移、点突变、结构域交换实验, 对受体分子的功能域的确定, 受体与其靶基因 DNA 及其他转录因子间相互作用的分子细节, 染色体结构的参与、激素配基的作用等方面均有所阐明。目前认为激素诱导的基因转录增强作用可能是通过下述模式完成的: 固醇类激素与靶细胞内受体结合形成复合物后与受体偶联存在的 90kD 热休克蛋白自受体分子上解离; 受体的构象改变, 引起 DNA 结合区暴露; 不同受体的 DNA 结合域中专一的氨基酸“寻找”特异的 DNA 序列保守的氨基酸形成的环或指状结构与特异 DNA 序列结合。受体蛋白很可能是以二聚体形式起作用, 结合于 HRE 后, 还与其他起反式作用的核蛋白因子相互作用, 促进了以 RNA 聚合酶 II 为中心的转录起始前复合机制的形成与稳定, 从而使转录作用迅速进行。受体蛋白因而也可以被看作是一种转录蛋白, 是需有特定的配基(激素)激活的转录因子。最近报道的结合于鸡卵清蛋白基因上游启动子的转录因子(coup-TF)也具有受体大家族共有的结构。利用 cDNA 交叉杂交, 还发现不少类似结构的因子, 它们的功能尚属未知, 其配基为何也待鉴定, 可以设想也是疏水性小分子, 为不同细胞所特有的, 很可能是细胞代谢或营养产物, 起着细胞内在调节(intracrine)作用。这些新发现, 使固醇类激素受体的研究不仅成为基因表达及调控领域的前沿阵地, 可能还将为发展细胞内在调节系统的探讨提供线索。

鉴于固醇类激素的效应极为复杂和广泛, 除通过受体起作用

外,是否还有不属于直接调控基因表达的其他作用,特别是与细胞膜的相互作用如何,还是在争论中的问题,有待进一步研究。

3.6.5 激素、生长因子与癌基因关系的研究

癌基因的发现是肿瘤研究的一个里程碑,而阐明激素、生长因子受体与癌基因及其产物的关系是近年分子生物学和分子肿瘤学研究的热点。

近几年来,大量实验结果表明,不同的原癌基因产物都是复杂的细胞信号转导网络中的组分,在信号网络中这些蛋白质完成不同的功能,其中包括:在细胞外侧表现为配体及生长因子功能(*sis*, *hst*, *fgf-5*, *int-2* 等),在质膜中表现为受体的功能(*ras*, *erb*, *fms*, *neu*, *ros*, *trk*, *met*, *kit*, *ret*, *sea* 等),在胞质中具有信号转导物的作用(*raf-1*, *mos*, *pim-1*, *abl* 等),以及在核中作为转录因子(*erb A*, *C-jun*, *jun-B*, *jun-D*, *C-fos*, *fra-1*, *fos-B*, *C-myc*, *myb?*, *ets-1*, *ets-2*, *ski*, *rel* 等)。这些实验提示我们,即使不是全部,大多数癌基因的产物参与生长因子—受体—应答途径,由于在这点上的变化导致恶性转化。

生长因子与受体结合后,通过受体后的信号传递,最后导致特定的基因激活,蛋白质生物合成以及细胞的分裂、增殖、分化等活动的产生。目前受体后的信号传递途径的研究已成为前沿领域,特别是生长因子和癌基因产物在信号传递中的相互关连更是令人注目。

酪氨酸蛋白激酶(TPK)途径是人们熟悉的途径之一。非转化细胞蛋白质酪氨酸磷酸化反应仅占总磷酸化的0.03%,而转化细胞约增加30倍,故现在认为酪氨酸残基磷酸化是细胞生长调节的关键之一。多种生长因子受体,如EGF、PDGF、CSF-1、FGF

及 IGF 受体都具有 TPK 活性。一些癌基因产物如 src、yes、fgr、lck、fyn、lyn、hck、abl、arg、fes 等也具有 TPK 活性，并且不需与配体结合就处于激活状态。使细胞内蛋白质的酪氨酸残基磷酸化，产生细胞分裂的信号，这也许是转化蛋白促进细胞转化的重要原因之一。此外在许多分化及无核细胞中也发现有较高水平的 TPK 活力，这说明 TPK 不仅与癌化及生长因子介导的有丝分裂有关，而且也能调节已分化及生长着的细胞。最近又发现与 Src 有关的 TPK、P56、Lck、p59、fyn 能与 T 淋巴细胞的 CD4 和 CD8 表面糖蛋白作用，这说明酪氨酸蛋白磷酸化可能在 T 细胞活化中起重要作用。

3.7 分子免疫学

免疫生物学是当今生物科学的核心内容之一。分子免疫学和分子生物学以及细胞生物学的许多前沿课题有关，其中包括大分子的结构和功能、分子识别、多样性起源和分子进化、信号的跨膜传递，以及细胞激活、细胞的相互作用和分化等；同时它又是现代医学的主要基础领域之一，与诸如器官移植、自身免疫、预防医学等密切相关。分子免疫学在当今的生命科学中占有重要地位。

当今国际上分子免疫学的主要课题是识别分子和效应分子的结构、功能和基因。

3.7.1 免疫球蛋白及其基因

免疫球蛋白 (Ig) 既是 B 淋巴细胞识别抗原的受体，又是免疫应答中的效应分子。

Ig 分子是由两条重链 (H 链) 和两条轻链 (L 链, κ 或 λ 链) 组成。链内存在球状的功能区 (domain) 结构, 有可变功能区 (V 区) 和恒定功能区 (C 区)。在轻重链 V 区, 间隔在支架区内的各 3 个高变区 (或互补决定区, CDR) 共同组成抗原结合部位, 是抗体识别抗原决定簇的结构基础。现已建立阐明抗原-抗体结合关系的晶体结构, 进一步的研究将有助于改进抗体的特异性和亲和力。

Ig 分子有膜型和分泌型两种型式。它们在羧基端的氨基酸不同, 膜型 Ig 具有疏水氨基酸, 因而可固着在膜上。这两种形式不同的 Ig 是通过 RNA 剪接造成的。

重链和 κ 、 λ 轻链各有其独立的基因簇位于三对不同的染色体上。重链的 V 区是由三个独立的基因片段共同编码的。是由数目众多的胚系基因随机组合成的。不同的组合可造成数目巨大的不同 V 区基因。在重排过程中涉及部位特异的重组酶。通过酶切和有序但不一定准确的连接, 去除了插入序列, 将 V- (D) -J 基因片段连在一起。迄今这些重组酶尚未被分离出来, 什么机理引起重排也不清楚。造成抗体 V 区多样性除上述机理外, 尚存在体细胞突变的机理。这些突变只发生在 V 区基因, 而且突变频率很高 (10^{-2} — 10^{-3} /bp 代), 高突变常和高亲和力抗体的产生相关, 引起高突变的原因尚不清楚。

Ig 基因虽然位于成对染色体上, 但它只表达其中一条上的基因, 称为“等位基因排斥”。在重排时有的有效, 有的无效。一旦产生有效重排就可表达。

一个 B 细胞的抗体只有一种抗原特异性, 但却可有不同的 Ig 类别, 如 IgM、IgG 等。这是由于重链 C 区基因的转换所致。重链 C 基因位于 V 区基因片段的下游。

Ig 基因的表达和重排是由转录控制的。其启动子在 V 基因片段的上游,增强子位于 J、C 基因片段之间。最近找到很多结合 Ig 启动子和增强子的转录因子。有些因子已获得基因克隆,所有 Ig 的启动子都共有两个序列,八聚体 (ATGCAAAT) 和 TATA 框。现已找到多种能和启动子结合的因子,多数是非组织特异的,也有些是特异的,如和八聚体结合的 oct-2 结合蛋白。在增强子上也有多个蛋白结合位点,在找到的结合蛋白中少数是组织特异的,如结合在重链增强子 μ B 部位的 NF- μ B,在 π 部位的 NF- π ,结合在 κ 链增强子 κ B 部位的 NF- κ B 等。对 λ 链增强子的了解较少。今后将会加强特异转录因子基因调节的研究。由于对抗体及其基因的了解以及高技术的渗透,使当今种种抗体基因工程崛起,如嵌合抗体、重构抗体、催化抗体以及将抗体和毒素、酶等重组在一起产生新效应的抗体分子。现还建立了库克隆化技术 (repertoire cloning),构成联合免疫球蛋白文库,能将小鼠或人的 Ig 基因转入细菌内表达,并分泌有特异结合能力的单抗片段——VH 或 Fab,该技术据称有可能取代目前的杂交瘤技术。最近还报道,通过有机合成获得模拟抗体互补决定区的化合物,它具有原抗体的结合功能。但由于它不是肽,因而没有一般肽的弱点,如半衰期短和免疫原性强等。抗体工程的发展日新月异。

3.7.2 T 细胞抗原受体 (TCR) 复合物

对 TCR 的了解仅是最近几年的事。它们也是免疫球蛋白超家族成员之一,在结构、基因组成和重排方式以及多样性产生的机理方面都和 Ig 的情况很相似,但也有自己的特点。

(1) TCR 是二硫键相连的异二聚体,构成 TCR 的多肽链有 4 种: α 、 β 、 γ 、 δ , 它们分别构成 $\alpha\beta$ 型和 $\gamma\delta$ 型两种 TCR, 具有不

同的功能和分布。 α 、 γ 链的V区是由重排后的V、J基因片段编码的， β 、 γ 链的V区是由重排后的VDJ片段编码的。C区是由一个或几个C基因编码的。在产生TCR多样性的机理中迄今未发现体细胞突变的机理参与。

(2) 两个TCR都和CD3分子结合成复合结构。CD3分子是指三种20kD左右的肽链(γ 、 δ 、 ϵ)，以后又发现有 ζ 、 η 链参与。完整的TCR-CD3包括至少8个亚单位，它们结合成四种基本结构：TCR $\alpha\beta$ 或TCR $\gamma\delta$ 、 $\gamma\epsilon$ 、 $\delta\epsilon$ 和 $\zeta\zeta$ (少数为 $\zeta\eta$)。它们之间稳定的相互作用对受体复合物的组装十分重要。CD3分子(特别是胞质中有长链的 ζ 链)可能是将TCR接受的信息传递到胞内，通过磷酸酰肌醇途径导致T细胞的早期激活。最近发现T细胞表面的其他分子如CD4，通过酪氨酸激酶等也参与了激活。

3.7.3 组织相容性基因复合物(MHC)及抗原的加工和递呈

MHC分子是免疫细胞间相互作用时的关键表面分子。从80年代开始，人们对人和小鼠的MHC基因作了大量克隆、定位、测序工作，并研究其产物的生化性质。

1) MHC分子分三大类：I类分子涉及递呈胞内合成的内源性抗原给CD8⁺T细胞。II类分子是呈递内吞抗原给CD4⁺T细胞，III类分子涉及补体的C2、C4、Bf及21-羟化酶。MHC I、II类分子也是免疫球蛋白超家族的成员。I类分子由一条重链和一条 β 2-微球蛋白组成。II类分子由 α 链和 β 链构成。目前已分析了人的MHC分子HLA-A2和HLA-AW68的晶体结构，HLA-B27的三维结构分析也将完成。从对HLA-A2的研究表明，分子的顶部有一个和抗原片段结合的沟槽，长25Å，宽10Å。

2) T 细胞只识别位于 MHC 分子上的抗原片段, 目前很多研究涉及抗原在细胞内的加工以及加工后的抗原肽如何与 MHC I 类或 II 类分子结合。胞内合成的抗原如病毒的蛋白是在胞质溶胶中降解并被转运到内质网, 和新合成的 I 类分子的重链结合, 以后 $\beta 2$ -微球蛋白再和重链结合。和 I 类分子结合的肽的大小为 8—9 个氨基酸。II 类分子在合成后先和不变链 (invariant chain) 结合, 以后解离掉再和内吞后降解的抗原肽结合。和 II 类分子结合的抗原肽的大小, 现已证明为 13—17 个氨基酸。最近还开始研究运送抗原肽穿过胞内膜结构时所涉及的转运体 (transporter) 及其基因。

3) MHC 是迄今所知最复杂的多态性系统。过去 MHC 分子多用血清学和细胞学分型, 80 年代开始引用 RFLP, 现因 PCR 技术的开展, 可直接分析 MHC 基因的 DNA 序列。目前已定名的 I 类分子的等位基因近 80 个, II 类分子的等位基因约 110 个, 今后可望有更多新的发现。

4) 对 MHC 基因的表达和调控方面研究主要也是在调控序列及其相关的 DNA 结合蛋白。在 MHC I 类基因的调控方面已在启动子区找到一个干扰素反应序列, 它常要和增强子 A 协同才起作用。此外已经克隆了至少四个相应的结合蛋白, 其中三个是和增强子 A 所在的区域结合, 一个是和干扰素反应序列结合。现又开始对起负调节作用的元件和结合蛋白进行研究。在 MHC II 类基因的调控方面, 现认为主要和启动子—近侧区有关, 此区兼有启动子和增强子的特点。现找出了与转录有关的 X、Y、W (或 Z) 元件及其结合蛋白, 如结合 X 元件的 RF-X 和结合 Y 的 NF-Y 等。结合 W 元件的蛋白也已发现, 但尚未得到基因克隆。

除 MHC 分子是免疫细胞间相互作用的重要分子外, 一类调

节淋巴细胞远移和细胞间相互作用的粘合分子 (adhesion molecule) 也起重要作用, 如淋巴细胞功能相关抗原 (LFA1, 2, 3) 和胞间粘合分子 (ICAM) 等。这部分的研究最近发展很快, 值得引起注意。

3.7.4 补体

补体在抗感染和清除免疫复合物中起重要作用。它是一个庞大的系统, 已知有 30 多种蛋白, 包括溶血的补体成分、调节蛋白和补体受体, 并建立了几乎所有补体成分的基因克隆以及部分调节蛋白和受体的基因克隆。近年来在补体的结构、功能、生物合成、基因组成、多态性方面进展都很快, 其中主要包括下述几个方面:

1) 补体的活化有两条途径: 经典途径和旁路途径。两条途径在 C3 组分处相交, 由此走向活化后段共同的效应途径。在研究活化机理方面最主要的几项进展为: ①C1 活化的机理、C1 分子结构和活化的关系以及 C1 抑制物抑制 C1 自发活化的方式; ②C5—C9 攻膜复合物形成的机理, 包括 C5—C9 的作用次序和集合过程, 证明补体在膜上造成的穿孔是 C9 聚合形成的筒状结构所致; ③C3 转化酶和 C5 转化酶形成的机理。

2) 发现一群位于血浆或膜上的调节蛋白质, 前者如 C1 抑制物和 C4 结合蛋白, 后者如衰变加速因子 (DAF) 和膜辅因子蛋白 (MCP) 等。调节蛋白质的作用大体包括: ①抑制补体在液相的自发活化; ②增强或减弱补体对靶物质的作用; ③保护宿主细胞不受补体作用的损伤。

3) 在多种细胞上找到补体成分的受体, 如 CR1—CR5、C3a、C5a 受体等。补体受体在识别相应的配基后会引发各种细胞应答,

如 C5a 能引起嗜中性白细胞的趋化作用,并使细胞表面的 CR1、CR3 表达增加。红细胞上的 CR1 有助于清除循环免疫复合物。

4) 补体和疾病特别是和炎症的关系。由于补体是急性炎症的主要介质之一,控制补体激活或抑制活性片段对减少炎症中的组织损伤是有效的。已有报告,注入重组的可溶性补体受体 CR1 有助于减轻组织损伤。

3.7.5 细胞因子

细胞因子 (cytokine) 是一类涉及免疫应答和炎症过程中的调节蛋白质,目前包括白细胞介素 (IL-1—IL-12)、干扰素 (IFN- α , - β , - γ)、集落刺激因子 (G-CSF, M-CSF, GM-CSF)、肿瘤坏死因子 (TNF α , TNF β ; 后者又称淋巴毒素 LT) 和转化生长因子 β (TGF- β)。新成员还在不断加入。现已获得上述所有因子的基因克隆和纯的重组体,制作了许多探针,并对它们的作用作了大量研究。发现除个别因子外绝大多数是一种有多种细胞调节作用的因子,而且各因子的作用有重复,还能彼此诱发,在免疫应答中形成复杂的网络关系。分子结构上已经清楚的有 IL-2、IL-1 β 、TNF 和 IL-8。

细胞因子是通过高亲和力受体起作用,但细胞因子受体在细胞表面上表达不多 (102—104/细胞),给研究带来了困难。目前已报道的有:人 IL1—IL8、GM-CSF、TNF α 、TNF β 和 IFN- γ 等受体的序列。对细胞因子受体在胞内信号传递方面了解还不多。

最近发现存在天然的可溶性细胞因子受体,如在人尿液中检查的可溶性 TNF 和 IFN- γ 受体,在血清中检查的可溶性 IL-2R α (Tac)。这些可溶性受体仍保持和因子结合的能力,可能起拮抗剂的作用。有些可能起细胞因子的载体的作用。对细胞因子应用于

临床作了许多尝试,因而细胞因子成为目前生物工程的热点。

3.8 分子遗传学

分子遗传学是在分子水平上研究遗传与变异的机理,主要研究 DNA 复制、基因的结构、功能及基因的表达和调控。分子遗传学起始于 1953 年 DNA 双螺旋结构的分子模型提出以后。一系列重要的研究方法,特别是重组 DNA 技术以及近年的聚合酶链反应(PCR)、DNA 限制性片段多态性(RFLP)和快速放大多态 DNA (RAPD) 方法的使用,使分子遗传学研究日新月异地发展。在此基础上建立的遗传工程不仅形成一个新的产业,同时又反过来促进了分子遗传学、生物化学、细胞生物学等学科的发展。未来发展的一个大趋势是反向生物学,即从内在的基因入手,研究其结构和功能、编码的蛋白产物在细胞或个体生命活动中的作用,阐明外观上千变万化的生命现象的本质。分子遗传学研究应在这一发展趋势中占核心地位。

本书第 3.3 节核酸化学中已对 DNA 复制、转录、翻译、基因的表达和调控等作了阐述,有关内容不再在本节重复。

3.8.1 原核生物的分子遗传

原核生物基因组有同源序列或重复序列。这在动物 DNA 病毒表现得十分明显,在 RNA 病毒中也有重复序列。重复序列与基因组的复制和转录相关。

原核生物基因结构的特点是代谢功能相近的一组基因连锁成簇排列,形成一个操纵子,其中包括结构基因、操纵基因、启动基因和调节基因。它们的产物是一条多顺反子 mRNA,在翻译过

程中形成各个结构基因的不同肽链。大肠杆菌中的乳糖操纵子、阿拉伯糖操纵子都体现了这种特点。

关于转录的调控，有转录起始和终止调控。起始调控中首先是启动子。原核生物的启动子有共同的契合序列 (consensus sequence)，一般在 -35bp 和 -10bp 区域 (pribnow box)，是 RNA 聚合酶的识别位点。在转录时 RNA 聚合酶结合在识别位点。RNA 聚合酶的全酶是由 2α , β , β' 核心酶 (参与 RNA 链的延伸和终止) 加上 δ 因子组成，具有转录起始功能。 δ 因子决定 RNA 聚合酶对启动子的选择性，不同 δ 因子与核心酶结合，就决定了对不同启动子的专一性。

转录起始过程还有调节蛋白和转录因子参与。转录调节蛋白是双链 DNA 结合蛋白，如乳糖操纵子的阻抑蛋白、阿拉伯糖操纵子中的激活蛋白，它们以 α 螺旋-转角- α 螺旋的特征性结构与 DNA 相结合。转录因子如 ppGpp 与 DNA 聚合酶非共价结合，改变酶的构象。

转录起始调控中复制蛋白质 DnaA、DnaK 与 RNA 聚合酶相互作用，使复制与转录相偶联。另一方面，RNA 聚合酶与起始 tRNA、转译起始因子 IF-2b、延伸因子 EF-Tu 相互作用，构成转录-翻译相偶联。转录终止调控可在基因的不同位置进行，如在结构基因上游的衰减子、结构基因的暂停位点和下游的终止子。衰减是翻译和转录的偶合机制，以前导 mRNA 的翻译速度调节下游的基因转录。暂停位点控制 RNA 链的延伸速度。终止位点避免操纵子之间在转录上的相互干扰和影响 mRNA 的稳定性。

原核基因的转录产物是多顺反子 mRNA，其 AUG 起始密码子前的先导序列与 16SrRNA 3' 端相互补，是核糖体的结合位点。影响翻译效率的因素主要有：翻译起始结构、起始密码子及其与

核糖体结合位点的间距、第二密码子和起始区密码子的次级结构、翻译调节因子（如蛋白质和反义 RNA）结合在翻译起始区、阻抑核糖体 30S 亚基、起始 tRNA 和 mRNA 三者构成的复合物的作用等。

原核生物的生理状态和环境因子通过代谢信号或环境因子、传感器、调节基因与被调节基因等而影响基因表达。例如：①大肠杆菌趋化性响应系统，如果培养基的化学成分改变，使趋化传感器——甲基受体趋化性蛋白质（MCP）的受体区接受化学刺激，通过连接区将信号传递到信号区，使该区肽链的甲基化程度变化，导致构象变化，结果使鞭毛驱动取向。如果按顺时针取向，则使调节蛋白 CheA 和正调控蛋白 CheY 磷酸化，使被调节基因转录和表达。②多基因响应系统传感蛋白和调节蛋白末端顺序的保守性和磷酸化作用。磷酸盐系统的 *phoR*、*M* 基因、渗透压系统的 *EnvZ* 基因所编码的蛋白质 C 端与 CheA 有高度同源性。PhoB 和 Omp R 编码产物 N 端与 CheY 有高度同源性。磷酸化调节调控蛋白质的活性，是多基因响应系统中一个共同调节机理。如 CheA 可以使 NR I 磷酸化，而 NR II 可使 CheY 磷酸化。

噬菌体和质粒等染色体外基因与宿主的相互作用是依赖、竞争和互补的关系，如 Φ X174 的复制需要宿主 10 多种蛋白，T4 前期复制需宿主的复制机器等。依赖性又引起两者在复制、转录、翻译等方面的竞争，如噬菌体可以抑制或破坏宿主的功能，反之，宿主也有限制外源基因的功能。竞争中又起到互补作用，如质粒编码的抗药性、降解酶可使宿主在特殊环境中生存。

外源基因表达依赖宿主细胞的转录和翻译机器，但又不完全受其控制。如噬菌体编码的 δ 因子，或 RNA 聚合酶附加蛋白，可改变 RNA 聚合酶识别启动子的专一性，达到转录调节；质粒控制

宿主细胞分裂 (CCD) 系统的毒素蛋白和抑制毒素蛋白, 可以杀死无质粒的宿主细胞, 同时又使质粒的复制和分配与宿主细胞分裂偶联, 保证其稳定地传代。

3.8.2 真核生物的分子遗传

(1) 核基因组

真核生物核基因组的核苷酸数一般在 10^8 — 10^{11} 碱基对。有花植物核基因组大小有 100 倍的差异。核基因组大小差别的最主要原因是 DNA 中的重复序列含量不同。小麦核基因组中短重复序列多达百万个, 长的重复序列如核糖体 rRNA 基因 9kb 重复 5000 次。在人的核基因组中各种重复序列约占总 DNA 的 35%。重复序列的发生可以是各种复制和重组的结果, 也可以是转座子插入的结果。重复序列功能可能与基因表达和调节、同源染色体配对、DNA 复制等有关。

核基因组的基因数目约 5—10 万个, 占基因组的 5%, 大多数编码蛋白的基因是单拷贝序列。真核生物中大多数基因只有低水平表达, 只有数百个基因有足够表达。

目前对核基因组作图和测序主要集中在人类基因组作图和测序, 以利分析和阐明人的基因调控、遗传病发病机理和有助于对疾病的诊断。与此同时, 对一些模型生物, 如大肠杆菌、枯草杆菌、酵母、拟南芥菜、玉米、水稻、线虫、果蝇、小鼠等也在进行其核基因组作图和测序, 以了解生物进化和动植物分子育种等重大问题。

基因作图有两种:

1) 遗传图谱: 以基因连锁和重组交换值构成图谱, 图距为 CM (厘摩)。用 STS (sequence tagged site, 序列标记位点) 标记作鉴

定。

2) 物理图谱: 指明如限制酶切点、基因等在 DNA 上的位置。图距以物理长度如染色体带区、核苷酸对数目等为单位。在物理图中有细胞遗传学图、限制酶切图(如 RFLP 图)、STS 图(染色体上 STS 按其原有次序和间距构图)和 RAPD 图。

(2) 核基因结构

核基因结构基本上可分为三部分, 即 5' 端启动区、结构区和 3' 端尾区。

5' 端启动区有: ①转录起始位点标志 Cap 结构。②5'-UT 引导序列, 这在不同基因中长度不同, 是从 Cap 开始到起始密码子 ATG 的一段序列。③TATA 盒, 一般在 -30bp 处, 与精确转录有关。④CAAT 盒, 一般在 -40bp 到 -110bp 处, 参与转录调节, 而在植物基因组中一般是 AGGA 盒。⑤增强子, 可以活化同源或异源的启动子。两个方向都能起作用。可位于基因上游, 也可在下游, 甚至可以远距离作用。其核苷酸序列一般是 GTGGT/AT/AG。增强子的序列常与嘌呤和嘧啶的改变有关, 形成左旋 Z-DNA, 行使对基因调控。酵母基因中的增强子又称上游激活序列(UAS)。⑥决定基因的时空性表达和对环境信号反应的专一性序列。

基因结构区有: ①内含子(intron)。大多数基因都有内含子, 为不翻译区, 在 Pre-mRNA 的加工中被剪切去除。②外显子(extron), 是基因的翻译区。转录后加工去除内含子, 外显子连在一起, 成为一个成熟 mRNA。

3' 端尾区实际上也是调节区, 有转录终止信号 TGA 和 PolyA 序列, 不同基因的 PolyA 的数目也不同。

(3) 基因表达和调控

基因表达和调控包括转录调控与翻译调控。一般所称顺式元件指核酸，反式因子指蛋白质。

1) 转录调控

研究集中在顺式元件和反式因子及其相互作用。顺式元件如上述基因 5' 端区转录起始位点及其上游 TATA 盒、CAAT 盒，上下游或内含子内的增强子和有的基因的抑制子 (silencer) 等，它们是反式因子作用的靶区。反式作用因子很多，结合 TATA 附近的转录因子有 TF II A、TF II B、TF II D、TF II E；结合上游序列的转录调控因子有 SP-1、CTF、AP-1、AP-2、Oct-1、Oct-2 等。这些反式因子一般都有不同的功能区域，(domain) 如 DNA 结合区、激活基因转录区等。

反式因子 DNA 结合区的结构有多种不同类型：①螺旋-转角-螺旋模式：在两个 α 螺旋中，一个为识别螺旋，氨基酸残基直接与靶 DNA 大沟的碱基专一结合；另一个 α 螺旋穿越大沟，与 DNA 形成非特异结合。在反式因子中都有长约 60 个氨基酸高度同源区或保守区，广泛存在于从酵母到人的各类生物中。通过同源区域中螺旋-转角-螺旋结构，与启动子或增强子的特异 DNA 序列结合。②锌指 (zinc finger) 模式：TF II A 的 DNA 结合区，大约每 30 个氨基酸就有一对 Cys 和 His，分别处在反平行 β 折叠和 α 螺旋中，与 Zn^{2+} 形成配位键。共有 9 个重复单位，形成 9 个“手指状结构”。哺乳动物 SP-1 (26)、酵母细胞的 GAL4 有类似这种结构。③亮氨酸拉链 (leucine zipper) 模式：酵母 GCN4、哺乳动物 fos 因子的 DNA 结合区有 4—5 个亮氨酸，它们之间相距 9 个氨基酸残基，在 α 螺旋上每绕两圈就出现一个亮氨酸，并排成一

行。在两个蛋白质分子相应的 α 螺旋之间,靠亮氨酸残基的疏水作用力形成一条拉链,使蛋白质亚基形成双体形式和亮氨酸重复区碱性氨基酸处在适当位置,决定 DNA 序列的专一结合。此外还有一些其他结合方式。

反式因子的激活基因转录区,一般由 20—100 氨基酸组成。结构的共同特点是有很多带负电荷的 α 螺旋,但在氨基酸序列上很少有同源性。激活转录水平与净负电荷变化有关。也有的不是带负电荷的 α 螺旋结构,而是有 20—30%的脯氨酸残基结构。酵母和哺乳动物细胞的反式因子激活转录区可以互换。

一种顺式元件可作为多种反式因子的作用靶区。多种蛋白因子的存在,能增加它们单独或协同调节基因转录的精确性和灵活性。

反式因子结合 DNA 特异核苷酸序列常以二聚体形式作用,有些可以是异源二聚体。异源二聚体产生的新蛋白质,可能具有新的识别专一性,或可能在两种生理条件下影响基因表达。

有些反式因子经物理或化学因素诱导后才具有活性。磷酸化对一些蛋白因子的功能起重要作用。

反式因子与特异 DNA 序列相作用还涉及反式因子之间的反应。以二聚体或异源二聚体形式才能与 DNA 相结合,体现了这种作用。转录因子 TF II A、TF II B、TF II D、TF II E 和 RNA 聚合酶 II 与 TATA 盒附近的 DNA 序列相作用时,各种反式因子之间需遵守一定的时、空秩序性。

位于 DNA 上不同位点的反式因子,可以通过两个位点间的 DNA 形成环(loop)发生相互作用,调节基因的转录过程。不过起作用的是反式因子,不是环本身。

基因转录的调控机理具有共性。有些基因,如鼠乳腺癌病毒

启动基因、SV40 病毒早期启动基因、单纯疱疹病毒 TK 启动基因、腺病毒晚期启动基因、 β 珠蛋白基因等的上游插入 UAS 或人工的 17bp, 在人的 Hela 细胞中的 GAL4 都可以激活这些基因的表达。酵母和哺乳动物细胞的 TATA 结合蛋白质可以互换。酵母 TATA 结合蛋白质可以替代哺乳动物中的转录因子 TF II D。

植物基因调控研究用转基因植物作为主要手段。植物基因结构、组合方式及调控机理与动物相类似, 但不完全相同。目前从植物中已鉴定的顺式元件有光调控元件 (LRE)、热休克元件 (HSE)、种子特异及发育调控元件 (SDRE); 反式因子有 GT-1、EGBF-1 等。对反式因子的研究不如顺式元件深入。

2) 翻译调控

真核生物的 mRNA 是单顺反子, 一个 mRNA 只产生一个翻译产物。核基因的 mRNA 有很长的引导序列, 其中可有不只一个 AUG, 引导序列对翻译可进行调节。mRNA 与蛋白质结合形成信使核糖核蛋白颗粒 (mRNP)。蛋白质决定 mRNA 在细胞质中的阻遏或转译状态。mRNA 在转译和阻遏状态之间可以相互转换。

mRNA 的转译会受到反馈抑制。在苜蓿豆血红蛋白体外转译系统中加入苜蓿豆血红蛋白可以反馈抑制它的 mRNA 转译。这种反馈抑制在肌红蛋白上可以看到。

(4) 转座子

转座子是核基因组内能改变自身位置的一段具有特殊结构的 DNA 序列, 在从低等到高等生物普遍存在。植物转座子研究较多。转座子转座过程是同一转座子在核基因组上的切割和插入。切割时使与转座子相连接的目标位点重复区核苷酸增加、缺失或倒位。植物转座子在组织发育的特定时期以特有的频率发生转座和引起

遗传变异，并可调节基因表达。

转座子 DNA 长度不等，其特点是末端有反向重复序列以及相似序列中在中间的多次重复。插入目标位点可在外显子、内含子、启动子以及 5' 端的引导序列。由于末端反向重复序列，转座时两端配对形成茎环结构。转座子内部缺失的 DNA 片段不同，就转化为很多非自律性因子，如 I 因子则是 En/spm 转座子衍生而来，Ds 则是 Ac 转座子的衍生物。非自律性因子基因产物又产生不同功能，有的可能起到反馈调节作用，抑制转座行为。转座子有活动期和非活动期的周期变化，DNA 的甲基化修饰可以调节植物转座子活动。

转座作用不仅由 DNA 引起，也可由 RNA 引起。由 RNA 引起的遗传信息逆向转移传给 DNA，引起 DNA 信息结构改变，称之为逆转位作用。引起逆转位作用的遗传因子则称为逆转座子。逆转座子可分为病毒超家族和非病毒超家族两末端重复，中间有 pol 等基因。真核生物核基因组中有与逆转录病毒前病毒 DNA 整合形态类似的序列，称逆转录转座子，也有末端重复和 pol 等基因同源序列。后者为核基因组的分散重复序列，相应于细胞中某类 RNA 的部分或全部序列，并保留了 RNA 加工痕迹。可能这类序列是由 RNA 逆转录而成，但与真正的基因相比，没有上游启动序列，通常不表达，故称逆假基因 (retro pseudogene) 或加工假基因 (processed pseudogene)。

几乎所有种类的细胞 RNA (除 rRNA 外)，都能产生其逆转位序列。如 RNA 聚合酶 II 的转录物构成的逆转座子，有 mRNA 和 snRNA 的逆假基因和半加工的逆基因以及哺乳类的长分散重复序列；由 RNA 聚合酶 III 的转录物 (tRNA、7SK RNA、7SL RNA) 构成的逆转座子形成各种短分散重复顺序。逆转座子的整

合机制可能类似细菌的转座子，它是核基因组结构的重复变异因素。高等植物有较快的进化速度和较大的适应能力，很可能与其数量极大的逆转座子有关。由于 RNA 多拷贝，发生加工变异，或阅读时移码改变蛋白序列，通常可以保留若干正常的模板产物，不会给生物带来灾难，但却可能为构建新的更有效的蛋白质提供更多的机会。

3.8.3 细胞质基因组

(1) 线粒体基因组

动物线粒体基因组一般为 15—19kb，包括编码蛋白的基因，rRNA 基因，tRNA 基因和一个 D 环区或控制区。D 环区有起始线粒体 DNA 复制和 RNA 转录的位点。动物线粒体 DNA 基因组排列紧凑，结构基因没有内含子。大多数调节序列都位于 D 环区。线粒体（包括植物与真菌）的遗传密码与原核、真核细胞核“通用密码”不同，如密码 UGA 在前者编码色氨酸，而后者为终止子。又如 AGA、AGG，在前者为终止子而在后者为精氨酸。动物线粒体为双链环状，二条链都独立复制但延长方向正好相反。在复制时有时间差，如果蝇、海胆线粒体 DNA 一条链复制结束，另一条链才开始复制。近来发现许多神经肌肉疾病与线粒体 DNA 突变有关。

高等植物线粒体基因组大小差别甚大，十字花科约为 200kb，瓜类的则有 2500kb，其中 10% 是重复序列。植物线粒体 DNA 含 3 个 rRNA 基因，14 个 tRNA 基因，3 个核糖体蛋白基因，3 个细胞色素氧化酶基因，1 个细胞色素 c 还原酶基因，5 个 ATP 酶基因和 2 个 NADH 脱氢酶基因，有的基因有内含子。植物细胞质雄性不育是线粒体 DNA 突变所致。

(2) 叶绿体基因组

叶绿体基因组一般为 120—210kb 的环状分子。现已对地钱、烟草和水稻的叶绿体基因组进行了全序列分析。有 2 个反向重复区 (10—25kb)，各载 1 个 rRNA 基因操纵子 (23S、16S 和 4.5S rRNA)。豆科植物只有 1 个 rRNA 操纵子，1 个大单拷贝区 (80kb) 和 1 个小单拷贝区 (20kb)。4 个 rRNA 基因，30—32 个 rRNA 基因，19 个核糖体蛋白基因，4 个 RNA 聚合酶基因，1 个转译起始和延伸因子，2 个 PSI 蛋白基因，8 个 PSII 蛋白基因，3 个细胞色素 b/f 复合体基因，6 个 H^+ -ATP 酶基因和 1 个 Rubisco 大亚基基因。其他的有 6 个电子传递系统基因，3 个细菌铁氧还蛋白基因，2 个半透性酶基因，以及还有 28 个功能不明的 ORFs。叶绿体基因结构与原核生物相同，表达相似。很多基因与 *E. coli* 基因有高度同源性。

(3) 细胞质基因组与核基因组相互关系

细胞质基因组的遗传系统不完全，有一些重要蛋白质是有多个蛋白质亚基所构成，而像 H^+ -ATP 酶、细胞色素氧化酶等，它们有的亚基是核基因组编码，有的亚基是由细胞质基因组编码。核基因组中有线粒体 DNA 同源序列，也有叶绿体 DNA 同源序列。编码亚基的核基因和细胞质基因表达上也有协同性。核基因组与细胞质基因组密切相关。

3.8.4 动植物-微生物相互关系的分子遗传

正链和负链 RNA 病毒基因组身兼复制、转录和病毒颗粒装配三种职能。TMV、SBMV、BMV 侵入植物后，脱去外壳的同时，

就进行翻译。转外壳蛋白基因植物，因存在外壳蛋白，抑制了入侵病毒颗粒脱壳而抑制病害发生。

病毒结合膜受体以后，可以通过内吞进入胞内，也可能与质膜融合的形式进入胞内。一般 DNA 病毒在核内、RNA 病毒在胞质内进行繁殖。这个过程涉及多个步骤，任何一个步骤都可成为抗病毒药物的靶。

和动物一样，植物遇到病原体的侵入，一般都有自卫的免疫能力。免疫力不同，对病原体反应不同，植物的这种免疫物质称植物解毒素。这些解毒素有苯丙烯酰合成酶（CHS）、苯丙氨酸氨裂解酶（PAL）和富羟基脯氨酸糖蛋白（HRGP）等，与植物抗病害强弱有关。CHS、PAL 是苯丙氨酸类代谢过程中生物合成黄酮类的酶。抗性品种中，这些酶的基因转录、翻译十分迅速。不抗品种则相反。HRGPs 是植物细胞壁的主要结构组分，是病原菌的凝集剂，或使木质素沉积，成为病原入侵时的细胞结构屏障。以上这些酶的基因已经分离和克隆，它们是多基因家族，不同的外界信号，诱导激活不同成员。

根瘤菌共生固氮与宿主基因密切相关。根瘤菌引起致瘤是由于含有结瘤基因（nodD）。nodD 是调节基因，其产物是正调控因子，但是它必须受宿主的类黄酮激活才起作用。被激活的 nodD 产物与 nod 基因启动子区的 47bp nod 盒相结合，nod 基因才表达。在一定条件下，nodD 产物又是负调控因子。所以根瘤菌与宿主间在结瘤阶段的有效相互作用是双控制作用。宿主的豆血红蛋白在根瘤固氮中起重要作用，但其基因必须要在根瘤菌侵入后才能在根瘤中表达。

土壤农杆菌使多种双子叶植物致瘤或生根。对其 Ti 质粒或 Ri 质粒作了详尽的研究，特别是 T-DNA 的致瘤基因和转座性质

的研究以及对 T-DNA 的改造,成为植物基因工程中外源基因的良好载体。对 T-DNA 插入的机理以及 Ti 质粒基因表达与核基因的关系、宿主植物对 Ti 质粒中基因的诱导等研究都有了很大进展。

3.9 分子病毒学

病毒学是一门跨生物学、医学和农学的独立学科。噬菌体的定量遗传研究曾经为分子遗传学的创立奠定了基础。近 30 年来,随着生物化学、细胞学、遗传学、免疫学、临床医学和动、植物病理学的相互渗透,相互促进,各种物理、化学新技术和分子生物学方法的广泛应用,使病毒学已经全面进入分子病毒学阶段,并成为分子生物学前沿的交叉学科。

病毒是研究基因组结构和基因表达调控机理的最好模型。研究反转录病毒发现了反转录酶,从而修改和补充了遗传信息传递的“中心法则”,同时使 cDNA 基因的合成和异源重组表达成为可能。肿瘤病毒的研究导致了原癌基因的发现,使肿瘤发生机理研究有了新的突破。真核病毒基因组结构和表达的一系列重要发现,如基因重叠、内含子的剪辑、转录后加工、翻译后修饰、增强子等各种顺式调控信号和反式调控蛋白因子等等,为阐明真核基因表达调控的基本原理,带动分子生物学迅速发展起了重要作用。

现代临床病毒学研究则表明,有更多新的病毒病正在严重危害和威胁着人类的生存和发展。据统计,人和动物的传染疾病约有四分之三是由病毒所引起。诸多病毒病对人类的严重威胁,与寥寥无几的防治手段形成极鲜明的反差。造成这种局面的主要原因之一,就是因为人们对各种病毒的分子生物学知识积累仍远远

不足以为防治病毒病提供必要的理论指导和可行的技术手段。分子病毒学的发展将改变这种状况。同时以杆状病毒为代表的无公害病毒杀虫剂的开发应用和以各种病毒为载体的基因工程,则将为减轻虫害、改善环境,促进以生物技术为支柱的高技术产业的发展,实现肿瘤及遗传疾病的基因治疗开创新的途径。

随着分子病毒学的发展,国外已有 20 多种单科病毒的分子生物学专著出版或再版。如 DNA 或 RNA 肿瘤病毒、流感病毒、EB 病毒、副粘病毒、腺病毒、肝炎病毒、杆状病毒及类病毒等的分子生物学。干扰素、病毒基因工程、病毒免疫学等方面的专著和专论也很多。我国侯云德主编的《分子病毒学》一书比较全面地介绍了 80 年代的成果。

3.9.1 病毒分类和进化的分子生物学原则

随着病毒分离鉴定方法的改进,大量新的病毒不断发现。已知的数千种病毒,传统上按宿主类别、病毒的形态和组成、以及抗原性进行分类已不能准确地反映病毒的进化关系。通过病毒基因组结构和复制方式的研究,发现许多传统分类差别极大的病毒之间复制方式相似,在进化上具有同源性。病毒的进化很难用渐进的突变积累来解释,病毒与宿主或其他病毒之间的基因重组引起的飞跃式突变起了很大作用。因此,根据病毒基因组与 mRNA 的关系和复制方式,可以将病毒分成八大类群。在各科、属、种内部,根据一些基因或保守序列的同源性则可以建立更准确的分子进化树。这几类病毒是:双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、正链 RNA 病毒、负链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒、RNA-DNA 病毒(反转录病毒)、DNA-RNA 病毒、亚病毒。

3.9.2 病毒基因组的表达和调控

自从在 SV40 的早期调控区发现第一个病毒增强子以来,人们利用缺失分析、定点突变等技术发现了真核基因的各种顺式调控信号序列——各种启动子、增强子和和减弱子。并利用核酸酶足迹法和特异性 DNA 片段亲和层析法,研究了与顺式调控信号序列相对应的上百种反式调控蛋白因子,为阐明真核基因的表达调控提出了许多新观点、新模式。其中以 SV40 基因组的表达调控研究得最为彻底。SV40 基因组为 5243 对核苷酸组成的双链共价闭合环状 DNA。分为早期、晚期和调控区。调控区除早晚期转录信号外还包括复制起点。早期基因的启动区包括一个 TATA 序列、六个重复的 GC 序列和两个 72bp 的增强子。进一步的研究表明,SV40 增强子中有几个核心序列(motif),分别构成三个功能域,它们协同作用发挥增强效应。此外,增强子中还发现有晚期启动子。与 GC 序列、增强子、TATA 序列相对应结合的反式转录因子 Sp1, Ap1—4 及 TATA 因子均被证实和纯化。系统、精确的插入突变分析还发现,只有当相应顺式启动序列的结合位点都位于 DNA 螺旋的一侧,才有利于蛋白因子之间的相互作用,并与 RNA 聚合酶 II 形成稳定的转录复合物,有效地促进转录。DNA 构象的分析表明启动区的活化可能涉及 B 型向 Z 型的转化。各种反式转录因子至少有分别与 DNA 和激素结合的两种功能域,在结合域普遍存在 Cys2/His2 序列,容易形成特殊的“锌指”结构。从三维空间结构的变化角度,阐明病毒基因转录调控中 DNA 或 RNA 与蛋白质以及蛋白质分子之间的相互作用,已成为当前分子生物学中最令人瞩目的中心课题。腺病毒的全部晚期基因由一个强启动子控制产生一个长达 28kb 的初级转录物,然后通过不同

的终止或剪辑方式表达出 20 多种 mRNA 和多种蛋白质,为 RNA 加工的研究提供了一个典型。脊髓灰质炎病毒的基因组在去掉 5' 端的 VPg 引物蛋白后,作为 mRNA 只翻译成一个多聚蛋白,经过不同的切割最终成为 26 种功能不同的蛋白质或多肽,参与病毒的复制和装配,为复杂的翻译后修饰提供了另一种典型。

3.9.3 病毒感染和致病的分子基础

宿主细胞表面的受体与病毒的受体结合蛋白相互作用,是病毒感染细胞的先决条件。病毒的受体结合蛋白多位于被膜或衣壳上。流感病毒的受体结合蛋白——血凝素(HA)由三个 HA 分子单体聚合而成。HA 基因的突变是流感病毒抗原漂移的基础。不同变异株 HA 基因和氨基酸序列分析查明,抗原漂移主要与 HA1 有关,HA2 则相当稳定。HA1 中第 142 至 146 个氨基酸残基,尤其是第 144 和 145 位氨基酸的变异,是引起有流行病学意义的抗原漂移的关键位置。艾滋病毒即人免疫缺陷病毒(HIV)的被膜蛋白基因编码的糖蛋白 gp160 中的表面抗原 gp120,与 T4 细胞表面的受体 CD4 分子结合是病毒感染和致病的主要基础。比较脊髓灰质炎病毒强毒株与减毒疫苗组的 7433 个核苷酸全序列,发现仅有 10 个碱基变异。而与病毒神经毒性变化有关的仅是其中一个碱基的置换。对狂犬病毒进行的类似研究发现,与毒力有关的只是致病糖蛋白 gp60 基因中的一个碱基,此碱基改变若导致第 333 位精氨酸变为甘氨酸或谷氨酰胺则毒性消失或减弱。这一变化似乎并不影响该区的 β 折叠结构,此精氨酸的改变如何影响 gp60 的毒力尚待进一步阐明。动物轮状病毒的致病基因 VP3 的序列比较,则发现毒力的变化仅与 VP3 蛋白第 23 位的谷氨酰胺转变成赖氨酸有关。由于序列测定技术的改进和推广,人们已经可以从核苷酸

和氨基酸序列水平上广泛地分析各种病毒的感染和致病原因。这方面的研究成果已经发展成为分子病毒学的一门新的分支——病毒分子病理学。

3.9.4 病毒与肿瘤

病毒是重要的生物致癌因子。对化学和辐射致癌因子的长期研究似乎难以揭示癌变过程有关的特定基因及其调控变化,肿瘤病毒的研究揭示了与癌变相关的基因,并导致了细胞原癌基因的发现。据估计,人类癌症有 10—20%是由病毒引起。当前研究的重点是病毒在激活癌基因中所起的作用和癌基因编码的蛋白的功能及其致癌的原因。所有的 RNA 肿瘤病毒都属于反转录病毒。从 50 多种急性反转录病毒中已发现了 20 多种癌基因。序列分析和分子杂交的结果表明,病毒癌基因显然起源于正常细胞中对应的原癌基因。根据癌基因蛋白的不同功能可以将癌基因分成六族:第一族是编码蛋白激酶、且氨基酸序列与 src 基因编码的 pp60 同源。第二族是 ras 家族。第三族为唯一已知的分泌型 sis 癌基因。第四族是核蛋白癌基因。第五族是编码甲状腺素受体蛋白的 erbA。第六类为定位和功能不清、尚未分类的癌基因。DNA 肿瘤病毒的致癌基因与细胞癌基因一般无同源性,但一些 DNA 肿瘤病毒转化基因的功能与原癌基因相似。所以 DNA 肿瘤病毒的致癌机理将不可避免地 与细胞原癌基因的功能联系起来。慢性反转录病毒通常不含癌基因,不能转化培养细胞,但在体内能诱发白血病或淋巴瘤,其机理主要是病毒的 LTR 片段整合到细胞癌基因邻近,改变了癌基因的表达。乙肝病毒 (HBV) 与肝癌的关系已从多方面确定,HBV 的 x 抗原可能是一种增强子的反式转录因子,其活性可被 SV40 的 T 抗原竞争性地抑制,此外 HBxAg 还可激活艾

滋病毒的增强子。HBV 和 HIV 在致癌过程中可能有协同作用。人的抗癌基因 Rb-1 的发现，使一些人相信还有各种抗癌基因会被发现，抗癌基因的缺陷或破坏也可能是癌症发生的遗传基础。总之，由点突变致癌到发现原癌基因，由个别癌基因的活化到两种以上癌基因的协同作用，由癌基因的鉴定深入到癌基因蛋白的多种功能，人们对肿瘤的发生机理的认识发生了深刻的变化，它牵涉到在不同阶段不同细胞中与癌变有关的一系列基因的调控机理变化。

3.9.5 病毒基因工程

病毒基因工程是现代生物技术的重要领域，其基础理论已成为分子病毒学的重要内容。目前国内外的研究重点是新型基因工程疫苗的设计和真核病毒表达载体的开发。应用基因工程中定点突变或缺失毒力基因的方法可以成功地解决常规减毒活疫苗遗传不稳定和毒力回升问题。曾经在消灭天花中卓有成效的痘苗病毒，由于免疫性强和相对安全，很有希望在研制多价的基因工程活疫苗中重新启用。像乙肝病毒、艾滋病毒等易与宿主细胞发生基因整合的病毒因极不安全而不能采用活疫苗，血源性亚单位疫苗又因来源有限、成本太高而不利于推广，只能寄希望于基因工程疫苗，乙肝病毒基因工程疫苗的研制成功为此提供了极好例证。近年来随着昆虫杆状病毒分子生物学的迅速发展，以杆状病毒为载体利用其多角体蛋白基因强大的启动子，在昆虫细胞或幼虫体内高效表达各种外源基因已经成功。中科院上海生化所和农科院蚕研所协作，以杆状病毒为载体在家蚕幼虫体内表达 HBpreS2-SA_g 的研究已经成功，达到国际先进水平。目前杆状病毒载体经过改造和重组，不仅可能同时表达两种外源蛋白，也可能成为杀虫力

更强的无公害杀虫剂，在农业上获得广泛应用。病毒基因工程中面临的突出问题之一，是表达产物的糖基化和翻译后修饰往往随表达系统而异。鉴于蛋白的糖基化和其他修饰具有明显的细胞和组织特异性，因此对于不同抗原或外源蛋白，必须慎密选择不同的载体和表达系统，才能保证表达的真实性。利用反转录病毒能与宿主细胞基因组稳定整合的特性，新发展起来的反转录病毒载体及其包装细胞系统可以将目的基因稳定地转入靶细胞基因组，成为转基因动物或基因治疗的最有效途径之一。通过改造的农杆菌 Ti 质粒系统，将 TMV、CMV、马铃薯 x 或 y 病毒外壳蛋白的 cDNA 基因转入植物基因组，得到抗病毒的植株已成功，为植物病毒基因工程奠定了基础。

3.9.6 病毒的分子诊断和抗病毒药物设计

利用核酸杂交技术的高度特异性，可以直接准确地对病毒感染作出诊断，监测病程，或进行病后评估，并能对暂不表达的潜伏状态病毒或表达量极微的早期病毒感染进行检测。此外，对那些抗原特性尚未查明的新病毒还可作出及时的鉴定。成功的经验表明，核酸杂交技术将在病毒临床诊断和流行病学研究中占据越来越重要的地位，并正在发展成为临床医学中的一个分支——分子诊断学。常用的杂交方法，由于样品纯度要求高、灵敏度不够和依赖于放射性同位素而必须加以改进。液相杂交不仅灵敏快速，而且适用于混杂样品。有人发展了一种单克隆杂交法，灵敏度可以达到 10pg RNA/ml。各种核酸杂交的体外放大技术使病毒分子诊断取得了新的突破。用 PCR 结合的杂交技术可以在 10^6 个未感染细胞群中可靠地检出一个艾滋病病毒感染细胞。利用 T7RNA 聚合酶的高效转录特性设计的体外转录放大技术，可以将靶序列放

大 $2-5 \times 10^6$ 倍。利用 Q β 复制酶可以将带有 Q β 复制起点的探针序列在 30 分钟内放大 10^9 倍。此外,应用带有大量次级探针结合位点的复合探针或“圣诞树”探针,通过次级探针及其偶联的“报告基因”多级放大杂交信号,也能达到检测临床病毒样品的要求。

临床对高效低毒的抗病毒药物的迫切需要对分子病毒学提出了严峻的挑战。除干扰素外,已有的抗病毒药物大多是对核苷酸类似物进行修饰筛选,靠半经验、半推理的方法设计而成。根据靶分子的结构和抗病毒药物与靶分子相互作用引起的空间结构变化进行设计,标志着抗病毒药物的设计已经进入新的推理阶段。一种能阻止病毒脱壳的药物(WIN52084)与鼻病毒作用后,结合于鼻病毒 VP1 蛋白“谷底”附近的疏水穴中,使 VP1 的三个区域发生构象变化,增强了衣壳蛋白的坚韧度从而阻止了脱壳。另一种令人鼓舞的推理设计是基于对病毒基因组结构和功能的知识,设计特异的反义寡核苷酸结合于病毒基因或 mRNA 的关键区域,有效地阻断病毒的复制或基因表达;或者利用反义寡核苷酸将能切割破坏核酸的活性基因如螯合 Fe^{2+} 的 EDTA 引入病毒基因组。围绕反义寡核苷酸如何在细胞中达到一定浓度,如何防止细胞核酸酶的降解,以及克服蛋白屏障到达靶序列及反义寡核苷酸在体内的表达等所开展的一系列研究也已取得不同程度的进展。

3.9.7 病毒对宿主细胞代谢的影响

病毒感染不仅能引起动物机体和细胞一系列的免疫反应,而且可以通过各种机理在不同水平上侵占和改变细胞代谢,同时也会诱发细胞产生一系列的防御反应,而病毒又能进而在进化中产生各种破坏细胞防御的功能,使病毒与宿主细胞的关系显得极其

复杂。病毒免疫学在机体和细胞水平上对病毒的免疫反应研究已经取得许多理论和应用成果，而病毒对宿主细胞代谢和基因表达的影响的研究还刚开始。在翻译水平上研究病毒对细胞蛋白质合成的影响已经取得一定进展。各种植物对病毒的侵染也能产生不同的防御反应，如细胞壁木质素沉积，产生植物毒素，积累富含羟脯氨酸的糖蛋白。合成蛋白酶抑制剂或水解酶、几丁质酶和葡聚酶，以及异黄酮、类黄酮化合物的增加。植物的抗病毒基因也正在用 RFLP 或转座子标记法进行定位研究。这些研究将大大增进人们对病毒与细胞关系的了解，丰富分子病毒学的知识。

3.9.8 分子病毒学的发展趋势

1) 从研究病毒本身生命活动的分子机理发展到研究病毒与宿主机体和细胞的全面关系。许多交叉学科和领域，如病毒免疫学、肿瘤病毒学、病毒基因工程、病毒分子生物物理学等不断形成，并与分子病毒学协同发展。

2) 从研究病毒的个别基因的结构功能向基因组的整体结构、基因之间相互关系和表达调控不断深入。尤其是把各种不编码的顺式调控信号与病毒或细胞的反式调节因子的研究结合起来，不仅丰富了分子生物学的核心内容，也带动了分子生物学的发展。

3) 研究的方法、技术手段层出不穷，改进很快。如由体外系统转入体内系统或相互结合；从一维结构进入三维空间结构和构象变化；从研究室转入临床等。

4) 分子病毒学的每一新发现、新成果都将及时被临床医学和高技术产业等应用学科所吸收，转化为实际应用成果。例如，1983 年杆状病毒的多角体基因序列刚一发表，同年 β 干扰素在昆虫细胞中的高效表达便获得成功，1987 年由杆状病毒表达的艾滋病毒

基因工程疫苗就首先获准进入临床试验。

3.10 基因工程的基础研究

基因工程技术自 70 年代建立后引起了科学界的高度重视。由于用基因工程方法可在体外按人们的要求进行基因重组和基因改造,并通过各类基因载体进行基因转移,打破了基因重组和基因转移的物种界限。以基因工程为核心的分子生物学方法在生物学、医学等研究中得到广泛的应用,几乎渗透到生命科学的每一个领域,成为研究和揭示生命现象本质和规律的一种重要工具。另一方面基因工程使生产人体各类内源的细胞因子、激素等活性多肽、蛋白质成为现实,基因工程产品已逐步发展为生物技术产业中一个重要的引人注目的新兴产业。基因工程的基础研究包括基因结构与功能、基因的复制与表达、基因分离、合成与修饰、基因的克隆与表达、基因的转移,基因产物的后加工等研究。前两项属于分子生物学基础研究,这里重点讨论后几项与基因工程直接相关的应用基础和关键技术研究。20 年来基因工程基础研究不仅使基因工程在理论上和技术上日趋完善,应用范围不断扩展,衍生和发展了蛋白质工程、途径工程、转基因动植物、基因治疗等新研究领域,而且对生物学和生物技术产业的发展都有深远的影响。

3.10.1 基因克隆和表达系统

基因克隆和表达系统是基因工程的核心技术,建立一个表达系统依赖于这个生物系统的遗传和生化研究及基因载体。早期建立的表达系统都是遗传背景较清楚的微生物系统,现已扩展到动植物细胞系统和动植物整体表达系统。但现有表达系统都有其各

自的优缺点，还有待于改进和完善，一个理想的表达系统的宿主和表达载体应具下列特点，宿主应是：能高水平表达目的基因；能有效地分泌和正确地修饰基因产物使其具有正确的构象和活性；不带有病毒或肿瘤基因；不受目的基因产物的影响；不降解产物；能稳定地传代；培养方便。基因表达载体应是：高拷贝数；具强启动子和稳定的 mRNA；具有高的分离稳定性和结构稳定性；转化频率高；宿主范围广；插入外源基因容量大而且可以重新完整地切出。复制与转录机器应和宿主相匹配，最好是可调控的，而且在宿主不生长或低生长速率时仍能高水平地表达目的基因。

(1) 微生物表达系统

最常用的微生物表达系统是大肠杆菌、枯草杆菌和酵母表达系统。大肠杆菌系统是遗传和生化研究最深入的一个生物系统，在复制、分配、转录和翻译研究中积累了大量突变基因和基因元件，可供构建表达质粒和工程化的宿主细胞，使外源基因得以高表达，外源基因产物在大肠杆菌的表达量常可达细胞总蛋白的 20—30%，甚至超过 50%，但大部分高表达产物常以包涵体的形式存在，不具生物活力。大肠杆菌分泌蛋白的能力较差，特别是不分泌蛋白至培养液中。利用病毒和大肠杆菌素的分泌机制可将某些周质蛋白分泌到胞外，并已成功地将周质表达的外源蛋白分泌到胞外。利用毒素蛋白的非信号肽分泌机制也可将表达产物直接分泌到胞外。分泌型的表达至今是大肠杆菌系统研究的热点之一。

枯草杆菌系统最大的优点是能将蛋白质直接分泌到培养基中，因此主要用于外泌型表达。野生型的枯草杆菌将几种蛋白酶分泌到培养基中，会导致目的产物的降解。两个主要的胞外蛋白酶基因已克隆并用以构建缺失变种，用这种宿主表达外源基因，可

提高外源分泌蛋白的稳定性,但仍有降解,因还有几个微量的蛋白酶。现已克隆了其中两个酶的基因,并构建了缺失变种。可能要消除所有的外泌蛋白酶才能避免外源蛋白的降解,但这种宿主不易存活。枯草杆菌表达系统另一个问题是重组质粒的稳定性差。可在构建质粒时避免重复序列和采用可调控的启动子来提高质粒的结构稳定性和表达稳定性,也可采用整合型的表达载体构建高稳定性的表达系统。近年来在革兰氏阳性菌中常用整合型表达载体构建基因工程菌。

其他微生物表达系统大多和他们原来的工业应用相联系。链霉菌基因工程研究主要集中于抗生素抗性基因和生物合成基因的克隆和表达,已克隆了 20 余种基因并对其基因结构与功能和表达规律进行了较系统的研究。由于链霉菌培养方便,外泌蛋白能力强,已开始进行外源基因分泌型表达的研究。乳酸菌的许多功能是由质粒编码的,如乳糖代谢,柠檬酸吸收,蛋白酶和细菌素。改变乳酸菌的代谢和生理特性,以提高食品质量是乳酸基因工程研究的主要目标。假单胞菌的基因工程研究是从降解质粒开始的,常用表达载体都是这些降解质粒的衍生物,在降解基因中 *xylE* 可作为指示基因,而 *xylS* 的启动子则用于构建诱导型表达载体,用以表达外源基因。由于假单胞菌中降解酶系特别丰富,故构建具有多种降解能力的基因工程菌,用于环境保护是假单胞菌基因工程研究的热点。棒状杆菌系统主要用于氨基酸的基因工程研究,并已成功地用于苯丙氨酸、苏氨酸等高产菌株的构建。

酵母是最简单的真核生物之一。其中啤酒酵母是一种安全宿主,不致病,不产生内毒素,遗传背景较清楚,已广泛用于外源基因的表达研究。常用的酵母表达载体有整合载体、附加体载体、自主复制载体和中心体载体。它们的拷贝数和稳定性不同,已用

于构建胞内和分泌型表达载体，以表达各种外源基因。与细菌不同，酵母是真核生物，具各种细胞内组织，它的分泌系统具各种翻译后加工功能。近 10 年来酵母分子生物学研究又积累了大量参与基因表达和质粒稳定维持的专一序列的结构与功能知识，使酵母系统成为比细菌系统具有更广泛潜在应用的系统。啤酒酵母与哺乳动物细胞蛋白糖基化的核心寡糖链结合序列是一样的，但糖链的后加工机理不同，导致肽链的过度糖基化，糖链长度常达 50 个糖基以上，有时甚至高达 200 个糖基。因此，酵母表达的糖蛋白常呈分子量的不均一性而且生物特性与哺乳动物中天然糖蛋白有较大差异。已得到了一些糖基化缺陷型酵母菌株，可用以控制糖基化的程度。酵母中还存在各种蛋白酶，使外源蛋白发生降解，使用蛋白酶缺陷型的菌株可降低外源蛋白降解。

Pichia pastoris 是一种工业酵母用于生产单细胞蛋白，可利用甲醇作为唯一的碳源和能源。它的醇氧化酶基因 (AOXI) 是一高表达基因，而表达受甲醇严格调控。在没有甲醇时只有少量合成，而当甲醇诱导时醇氧化酶可占细胞总蛋白的 30% 以上。用这个启动子表达外源基因只需单拷贝即可达到高水平表达。因此，*Pichia pastoris* 表达载体都用单拷贝的整合载体，在细胞生长和分裂时保持高稳定性。这个系统的另一个特点是在细胞生长速度接近于零时，能长时期地高水平表达外源基因。另外 *Pichia pastoris* 有较高的分泌蛋白能力，而且表达外源糖蛋白时能适度糖基化，一般糖链长度为 8—12 个糖基，但糖基组分与哺乳动物细胞仍有差异。最近用多拷贝整合型表达使外源基因表达量达每升 10 克以上， γ 干扰素胞内表达量达 96 克/升，分泌型表达量达 16 克/升。*Pichia pastoris* 表达系统是目前最接近理想表达系统的微生物系统。由于酵母的种类繁多，性能各异，开发新的酵母表达系

统的研究取得一定进展。除 *Pichia pastoris* 系统外研究得较多的是 *Saccharomyces lactis*, *Schizosaccharomyces pombe* 和 *Hansenula polymorpha* 等。

丝状真菌表达系统的研究主要集中在 *Neurospora crassa* 和 *Aspergillus nidulans*。这两种丝状真菌都能大量产生胞外蛋白质,而且遗传背景比较清楚。所有丝状真菌载体除 *Mucor* 外,都是整合载体。载体转化丝状真菌后,DNA 按 λ 型整合插入染色体,随机分布于真菌基因组,并经常发生串联排列的多拷贝整合。整合拷贝数和进入细胞的 DNA 量有关。丝状真菌中没有内生质粒,有人分离了线粒体质粒,但用它来构建附加体载体未获成功。丝状真菌的载体构建方面有一些困难,但在外源基因表达方面已有较大的进展。已分离了一些较强的启动子用于表达外源基因,从而成功地表达了牛胰凝乳蛋白酶、人干扰素、人抗胰蛋白酶及集落刺激因子。丝状真菌表达系统有较强的蛋白质分泌功能,而且它的糖基化类型、糖基种类、糖链长度均与动物细胞相似,适合于表达哺乳动物基因。但丝状真菌分泌外源蛋白的能力很差,原因还不清楚。

(2) 植物细胞表达系统和转基因植物

农杆菌是一种植物寄生菌,可感染许多双子叶植物,并携带基因掺入植物基因组。植物基因工程的一个重大进展就是农杆菌介导的基因转化。常用的农杆菌 Ti 质粒约 200kb,其中 13kb 参与基因转移和基因整合以及 opines 的合成。农杆菌介导的基因转移十分有效,可随机整合,而且不需筛选整合子,因为只有转化细胞具有 onc 基因。缺乏 onc 基因的“缺臂”质粒载体需插入附加筛选指标,常用抗性标记。农杆菌转化不能用于单子叶植物,为此

又发展了病毒载体,常用的有花菜花叶病毒 (CMV)。CMV 基因组 8kb, 系双链环状 DNA, 不整合至染色体, 为高拷贝载体。

转基因植物的研究发展甚为迅速。通过转化外源抗性基因、降毒酶基因和扩增内源基因, 得到各种抗除草剂植株。转化细菌的毒蛋白基因或蛋白质酶抑制剂基因, 得到了抗虫植株。转化病毒外壳蛋白基因或卫星 RNA 的 cDNA, 得到抗 TMV 和 CaMV 的抗病毒植株。利用反义 RNA 技术, 得到了牵牛花和蕃茄的新品系。虽然目前转基因植物还限于单基因转移, 但今后将引入像固氮这样复杂的基因簇, 从而改变整个生化途径。转基因植物除了用以改良品种外, 也可用以生产外源蛋白和药物。1989 年以来, 已陆续报道在转基因植物中表达单克隆抗体、白细胞介素、血红蛋白、淀粉酶、胰岛素、脑啡肽等外源蛋白, 以及生物合成天花粉和长春新碱等药物。

(3) 动物细胞表达系统和转基因动物

哺乳动物细胞表达系统的最大特点, 是具有分泌和修饰蛋白质的能力, 适用于表达各种人或动物的基因。它的缺点是生产成本较高, 产品不易去除病毒或有害基因的污染。

几乎所有哺乳动物细胞表达系统都使用病毒载体, 主要有 SV40 载体、牛乳头状瘤病毒 (BPV) 和反转录病毒。

SV40 载体的自主复制需要病毒的大 T 抗原, 可用 SV40 的早期或晚期启动子表达外源基因。SV40 具严格的装配要求。为了增加外源基因的插入容量, 常采用取代型载体, 取代其早期或晚期基因。这类载体需辅助病毒帮助其转化宿主细胞, 结果两种病毒都包装在病毒颗粒中。

牛乳头状瘤病毒有一个环状 DNA, 每个细胞可有几百个拷贝

数,基因组为 8kb,它的所有读框在一条链上,因此转录是单向的。BPV 载体易发生缺失和重排。用 Epstein Barr 病毒发展了类似载体,拷贝数达 60,较少发生缺失和重排。

反转录病毒作为载体,宿主范围广,可感染细胞和整体动物,转化效率接近百分之百,可插入大 DNA 片段,并有效整合至染色体,而不发生重排。反转录病毒基因组为单链 RNA,感染细胞后反转录产生双链 DNA,再整合到染色体。

在宿主细胞系方面,发展了不产生载体和辅助病毒重组体而能产生高滴度载体病毒的细胞系。还发展了改变病毒载体向性(tropism)的宿主细胞系,感染不同的包装细胞系,可得到呈不同宿主专一性的病毒载体。

痘苗病毒是一个双链 DNA 病毒,其基因组很大,大约为 180kb。史密斯(Smith)等人将编码乙型肝炎病毒表面抗原的 DNA 序列插入痘苗病毒基因组,重组病毒既保留了痘苗病毒的感染性,又能表达乙肝表面抗原。此外,人免疫缺陷病毒、狂犬病毒、疱疹病毒、流感病毒、EB 病毒、甲肝病毒等的病毒抗原基因都能被插入痘苗病毒得到有效的表达。痘苗病毒载体的优点,在于它有很强的启动子有效地启动外源基因的表达。它的表达产物能被正确地加工,因而具有良好的生物活性。它的基因组大,能够容纳 25kb 的外源基因而不影响病毒的复制。重组痘苗病毒保存有原来的感染性,有广泛的宿主范围,因此有很好的应用前景,特别是可以用来生产多价疫苗。

昆虫细胞表达系统研究得较多的是用核多角体病毒(NPV)的多角体蛋白基因(phg)的启动子所建立起来的一种病毒载体。它在昆虫细胞表达系统中表达外源基因水平高,外源蛋白可达总蛋白的 20—30%。NPV 基因组约 100—130kb,插入外源基因的容

量较大,可达10—100kb。NPV具严格的宿主专一性,使用安全。昆虫细胞系统既能表达原核基因,也可表达哺乳动物基因。昆虫细胞分泌蛋白能力较强,具有各种修饰功能,病毒载体不仅可在细胞中表达,也可在体液中表达外源基因,表达量可达每只虫10mg。

NPV基因组中没有内含子,但昆虫细胞具有RNA剪辑能力,它加工的专一性与哺乳动物细胞不同。昆虫细胞也有转译后加工能力,但加工机理与哺乳动物细胞不同,如只产生含甘露糖的糖蛋白,缺少唾液酸、半乳糖、岩藻糖的糖基化酶。蛋白水解方式也不同,缺乏 β 羧肽酶、类胰蛋白酶等内切酶。

转基因动物,常用显微注射、脂质体、反转录病毒和电脉冲技术进行基因转移。转基因技术是一个培育动物新品系的有用工具。研究转基因动物有二重目的,一是提高动物的产量和品质,用于肉、奶、皮毛生产;另一方面是用转基因动物作为反应器生产外源蛋白,如利用鼠生产人t-pA,羊生产人凝血因子Ⅹ等。反转录病毒作为载体用于家禽的转基因,效率很高。用脾坏死病毒作为载体,可将细菌的cat基因有效地引入和整合到鸡胚胎,接种后8天,100%胚胎表达cat基因。

用转基因家畜生产外源蛋白将成为现实。1987年在转基因小鼠的奶汁中得到了活性的t-pA,其后出现了大量用转基因动物生产外源蛋白的实验室,先后在小鼠和猪中表达了外源蛋白,表达量差别很大。1991年在羊奶中表达人 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶获得成功,最高表达量达60克/升,稳定表达量也高达35克/升。这种整体动物反应器因具有高体积产量,低生产成本,正确的翻译后加工等优点而引人注目。

3. 10. 2 基因工程相关的基础研究和技术

基因工程相关的基础研究和技术涉及面很广，包括分子遗传学、蛋白质化学、酶学病毒学、细胞生物学、生化工程等学科。下面重点讨论一些直接相关的基础研究和关键技术。

(1) 外源基因与宿主的相互作用

以质粒或噬菌体基因组为基础的基因表达载体，及其载带的目的基因在宿主细胞中的复制和表达，与细胞的基因型、细胞的生理状态及生活环境密切相关。外源基因与染色体基因的相互作用是一种依赖、互补和竞争的关系。在重组微生物中已对这种相互作用进行了较多的研究，阐明了它们在复制、分配、表达水平的相互作用。如 Φ X174 的复制需要宿主十几种蛋白，T4 前期复制需要宿主的复制机器，CoEI 复制需要宿主 DNA 聚合酶 I、pSC101 复制的起始区结构与宿主的 oriC 相似，有 DnaA/IHF（整合宿主因子）和解螺旋酶的结合位点，PK2 复制依赖宿主 DnaA、B、C 蛋白质、促旋酶、DNA 聚合酶 III，它们的稳定性也因宿主而异。这种依赖性又引起外源基因与染色体在复制、分配、转录、转译等机器以及细胞内氨基酸、核酸代谢库等方面的竞争。在这种竞争中，许多质粒、噬菌体还编码了专一的竞争机制，可以抑制或破坏宿主的功能。另一方面宿主也具有限制外源基因的功能，除了竞争外又起到互补作用，如质粒编码的抗药性、降解酶又使宿主细胞得到互补，可以在特殊的环境中生存。外源基因表达几乎完全依赖宿主的转录和转译机器，但也不完全受宿主控制。如有些噬菌体可以编码 σ 因子，或 RNA 聚合酶的附加蛋白质等，以改变 RNA 聚合酶识别启动子的专一性，达到转录的调控，噬菌体

的溶菌酶使宿主细胞膜溶化,从而裂解,释放噬菌体。质粒的 CCD (控制宿主细胞分裂)系统中的毒素蛋白和抑制毒素蛋白可以杀死无质粒的宿主细胞,使质粒复制的分配和宿主细胞分裂偶联,保证质粒在细胞分裂时稳定传代。

(2) 基因表达调控

重组微生物中表达目的基因的表达元件在操纵子水平的调控机理一般都比较清楚。当前基因表达调控研究的一个热点是基因表达的生理调控,也即环境和细胞的生理状态通过细胞的各种应答系统和基因调控网络调节各操纵子中基因表达。事实上,基因工程研究中常用的可调控的启动子都受这些应答系统调控,如 P1、P2 启动子受 SOS 应答系统控制,色氨酸启动子受严紧型应答系统调控,乳糖操纵子启动子受碳源利用应答系统调控。研究基因表达和生理调控对于表达载体的构建、基因表达、发酵过程控制都具指导意义。

在动植物细胞表达系统和转基因动植物中组织专一性的表达研究具有特别重要的意义。已鉴别了大量参与组织专一性表达调控的顺、反式作用因子。反式因子包括调控蛋白质和小分子的效应子;顺式因子为特定的 DNA 序列,一般为调控蛋白质的结合位点。这些研究已在转基因动植物的构建中起指导作用,并成功地使蛋白质的基因产物专一性地表达分泌到动物的奶汁中,或在植物的某一器官中表达。

(3) 翻译后加工

转后加工包括肽链折叠、分泌和修饰。这在细菌、真核微生物和动物细胞之间有很大的差异,甚至不同的哺乳动物细胞也有

差别。

同样的肽链，由于折叠不同可能导致免疫原性不同，生物活性和功能不同。二硫键是决定三级结构的一个主要因素，它存在于各种分泌蛋白如激素、水解酶、糖蛋白、免疫球蛋白中。目的基因在胞内表达时不能形成二硫键，而在分泌型表达时，在分泌过程通过蛋白质二硫键异构酶的作用，形成二硫键。

蛋白质的分泌受新生肽链的结构以及宿主细胞的分泌机器的影响，新生肽链的结构可以通过重组 DNA 技术改变结构基因而解决。因此宿主分泌蛋白质的能力往往是限制因素。

蛋白质合成后，化学修饰包括糖基化、磷酸化、磺化、羧化、羟化、乙酰化和十四烷酰化等。目前对后加工酶系的表达调控的了解还很不够。

(4) 包涵体和肽链再折叠

外源基因在微生物中高表达时经常形成没有生物活性的包涵体。在细胞质内天然蛋白质的产量取决于蛋白质合成的速率、肽链折叠的速率和聚集的速率。包涵体是由部分折叠的中间体局部变性聚集而成的，成熟的天然蛋白质和完全未折叠的肽链不会聚集为包涵体。引起变性的因素很多，例如高温、缺少蛋白成熟所需的亚单元、缺少辅基或分子伴侣等。包涵体很容易纯化，已发展了将重组蛋白包涵体溶解并再折叠为活性天然蛋白的方法，但一般收率较低，而且操作条件随蛋白质而异。分子伴侣作用机制的研究将有助于控制肽链在体内和体外正确折叠。

(5) 基因体外操作方法

电泳和超离心仍是分离和鉴别 DNA 片段的主要方法。最近

发展的脉冲电场凝胶电泳 (PFGE) 为 DNA 大片段和染色体的分离鉴别提供了有效的手段。这种交变电场琼脂糖凝胶电泳可用于测定低等真核细胞的核型和染色体大小, 而其大限制图谱在构建哺乳动物基因组图谱中起着重要的作用, 解决了物理图谱分辨率 (几百 kb) 和遗传图谱分辨率 (几千 kb) 之间的差距。制备型 PFGE 可用于大片段克隆、跨步基因和连续基因库的构建。

聚合酶链反应 (PCR) 是继分子克隆后潜力最大的方法。PCR 可在几小时内将特定长度和序列的 DNA 片段在体外扩增 10^6 — 10^7 倍, 因此也可称为体外克隆。PCR 已广泛用于基因克隆、基因拼接、定位诱变、框架位移突变、基因诊断、DNA 序列多形性分析、构建 cDNA 库等基因体外操作和基因分析。新发展的锚 PCR (A-PCR) 法和反相 PCR (I-PCR) 进一步扩展了 PCR 法应用范围, 可分别用于 cDNA 合成和短程基因跨步。

基因枪 (biolistic) 转化技术。基因枪转化已成功地用于转化动植物细胞和组织、昆虫胚胎、藻类、真菌、细菌和细胞内器官, 而对于植物、丝状真菌以及亚细胞器的基因转移特别有用。

4

我国生物化学与分子生物学现状分析

4.1 我国生物化学与分子生物学的成就和水平估计

(1) 已建立了一支相当规模的科技队伍和重点实验室

新中国成立以来的 40 余年,生物化学与分子生物学研究队伍迅速扩大。1978 年成立了中国生物化学会(1993 年改名为中国生物化学与分子生物学会)。到目前为止,中国生物化学与分子生物学会已拥有会员 6300 人,都是具有中级职称以上的生物学工作者,而且大部分人在研究所或高等院校从事教学与科研工作。近十多年来,又有大批中青年科学家到国外进修后回国工作。国内的重点院校和科研院所均设立

了生物化学与分子生物学的硕士和博士点，从而也培养了一大批国内的研究力量。

近年来，我国又建立了相当数量的国家重点实验室和部门开放实验室，涉及生物化学与分子生物学领域的这类实验室已有 10 多所。国内重点院校也通过世界银行贷款增添了不少生物化学与分子生物学研究所必须的大型设备。目前的设备条件，与十多年前相比已有很大改进。如果能够得到充分利用，加强设备维修和及时补充更新，则在设备条件上可说已具备一定的基础。

(2) 各个主要分支学科已经基本配套

原来有基础的研究领域如多肽与蛋白质、酶和核酸等，研究内容和范围已在不断扩大和深入。更为重要的是，若干新兴的领域，如分子遗传学、分子病毒学、分子免疫学等，得到了重点扶持和加强，为今后的进一步发展打下了较好的基础。与此同时，我国已开展基因工程和蛋白质工程研究，使我国生物化学与分子生物学研究在国家经济建设中崭露头角。许多研究得到较高强度的国家专项经费（如 863 项目、攀登项目、国家自然科学基金重点和重大项目等）的支持，更促进了有关分支学科的发展。从而使我国在生物化学与分子生物学领域的各个主要分支学科已基本配套，可以基本适应本学科发展的需要。

(3) 取得了一批重大科研成果，某些领域的成果已基本上达到国际先进水平

在过去十年中，生物化学与分子生物学领域内的研究成果获国家科技进步奖、国家自然科学基金奖和国家发明奖的项目逐年增多。一些成果如牛胰胰岛素和酵母丙氨酸 tRNA 的合成、核酸顺序测

定、天花粉蛋白的一级结构测定、胰岛素及一些蛋白质晶体结构研究、酶修饰的动力学和酶的结构与功能研究、生物膜的研究、光合作用的研究、视觉分子生理学等等，其学术水平均达到或接近了国际先进水平，受到国际生物化学与分子生物学界的重视。

4.2 我国生物化学与分子生物学面临的新任务和新形势

虽然我国生化与分子生物学经过 70 多年的发展，已经取得了很大的成绩，但是今后所面临的形势更加严峻，任务更加艰巨。首先，国民经济建设对生物化学与分子生物学提出了更高的要求，因此必须慎重选择对国民经济有重大关系的高技术加以开发利用。其次，除了开展应用研究外，应更加重视基础理论研究。多年来，生物科学已经经历了从生物整体水平研究向分子水平研究的转移；近年来一些研究又开始从分子水平研究向生物分子的组合以及向整体与分子水平研究结合的阶段。如氧化磷酸化与线粒体、光合作用与叶绿体、蛋白质加工及转运与高尔基体、果蝇的发育与调控基因网络等等。如何“扬长创新”建立我国自己的研究方向，同时跟踪国外研究进展，任务十分艰巨。再有，当前基础研究的困难，集中表现为缺钱缺人。面对大幅度涨价的试剂药品，大一点的课题无法开展，基础研究的队伍也难以稳定，因此急需制定对策。

5

我国生物化学与分子生物学发展的构想

5.1 制定发展战略的依据

任何发展战略必须根据国情去制定，各个具体学科还要参照我国现状和国际发展趋势来确定。

我国是发展中国家，而又处于经济建设高峰，百业待兴。各行各业都必须为这一特定历史时期，为我国社会主义经济保持长期稳定协调的发展作出贡献。生物化学与分子生物学也不能例外，要把立足点转移到为主战场提供服务，去研究解决经济建设中急待解决的重大问

题。国家高技术项目（即 863 项目）中有关生命科学的课题，已充分体现了这一构思。为这些项目国家投入了十分可观的资金和人力，而且每一项目都制定了五至十年的规划。可见即使已经成熟的基础理论和技术转变成产业，亦非轻而易举。

其次，生物化学与分子生物学是一门基础理论学科，在当今生命科学中具有举足轻重的地位。应用性课题如“863”项目虽然对基础理论有所促进，但它不可能替代理论研究。由于理论上的差距，我国在高科技方面只能以跟踪国外为目标。况且基础理论是高科技的基石，决不能削弱。

第三，基础理论研究需要经过长期努力才能取得成效，加上理论研究愈来愈多地依赖精密仪器和使用精密试剂，因此必须付出巨大的财力和物力。但资金不足的状况长期存在，这就要求用较少的投资作出有现实影响以及有可能在世界上作出创造性成就的领域。这是在制定战略过程中最困难却又是最重要的问题。我们不可能期望到 2000 年全面赶超国际先进水平，虽然现在看来大部分与国际水平尚有很大差距，但我们应该能在部分领域处于国际先进水平。

近 10 年来，我国也建设起一批设备比较齐全的重点实验室，由水平较高的学术带头人领导，并获得国家重点经费支持，今后在某些领域取得重大突破也是完全有可能的。当然，他们还将担负起培养年轻一代的责任，使这些重点实验室和重要研究领域后继有人。

5.2 近期发展战略的重点

基于上述我国的实际情况，我们必须建立一个有限目标的战

略。在照顾一般的同时,采取集中主攻方向、瞄准目标、突出重点的战略部署。防止遍地开花或大口袋式的、面面俱到的大项目。其中须优先开拓研究的重大领域有以下几个方面。

5.2.1 生物分子及其组合体的化学与三维结构的研究

这方面的研究工作我国有较好的基础。牛胰胰岛素及酵母丙氨酸 tRNA 的人工合成给蛋白质与多肽、核酸化学打下坚实的基础;蛋白质的三维结构也一直与国际先进水平同步。在这一基础上建议:

- (1) 进一步深入开展多肽生物学的研究,努力发现更多新的生物活性多肽,研究它们的生理意义、组织分布、并不断创新分析手段,提高测试水平。

在这一方面应优先资助如下课题:

- 1) 神经肽研究。
- 2) 免疫多肽研究。
- 3) 新的活性多肽。

- (2) 蛋白质的三维结构及其与生物功能关系的研究

阐明蛋白质的精确的三维结构,进而研究其与生物功能的关系已经成为了解一些重要生命现象分子机理的关键,并与蛋白质工程这样的新一代生物技术的发展与开拓密切相关。以 X 射线衍射分析为中心的蛋白质晶体结构和以二维核磁共振谱解析为中心的蛋白质溶液结构研究,在 80 年代取代重要突破和进展的基础

上, 90 年代将面临更加迅速发展的新机遇。我们应该不失时机地加速这方面的研究进程, 完整、精确、动态地测定蛋白质和多肽在溶液和晶体状态下的三维结构。这一领域应处于优先发展的地位。我国在晶体结构研究方面有较好的基础, 应选择意义重大课题, 做出更高水平的成绩。在国内开展二维和多维核磁共振溶液结构研究的技术和设备条件已经具备, 应选定合适对象进行深入研究, 取得有重要意义的成果。在这一领域近期应该优先资助的课题有:

- 1) 蛋白质的晶体生长规律及衍射数据的快速收集方法研究。
- 2) 重要蛋白质和多肽溶液结构的二维和三维核磁共振谱解析。
- 3) 一些重要蛋白质, 如膜蛋白、病毒和其他生物功能重要的蛋白质的晶体结构研究。
- 4) 时间分辨的蛋白质和多肽动态结构及其与生物功能关系的研究。

(3) 蛋白质折叠研究

在大量一级结构和高级结构积累的基础上, 研究这两者内在的规律性联系, 阐明从编码基因核苷酸序列翻译形成的或体外变性产生的线性多肽链如何形成具有三维特征的天然结构, 已经成为一个前沿性课题。这是分子生物学迄今尚未解决的基本问题之一, 从而具有重要的基础理论意义。同时, 对于通过蛋白质工程构建新型蛋白质分子, 有重要的实践指导意义。其主要研究内容, 可以包括体内新生肽链的折叠和体外变性蛋白的重折叠, 以及以氨基酸序列知识为基础的蛋白质构象预测。在这一方面近期应优

先给予资助的课题有：

1) 多肽的折叠研究。

2) 促进或催化肽链折叠的分子伴侣的研究。

3) 多肽链折叠的理论、计算机模拟和构象（三级结构）预测研究。

(4) 多肽工程和蛋白质工程

多肽和蛋白质工程是 80 年代兴起并获得迅速发展的领域，它不仅对生物高技术的开拓与发展具有重要意义，而且作为一种强有力的研究手段，对许多重要的结构-功能关系研究具广泛的推动作用。其主要研究内容应包括通过有控制的基因修饰和基因合成，对现有蛋白质和多肽加以定向改造，同时设计、构建并最终生产比自然界已经存在的更加符合人类需要的蛋白质和多肽。从总体看，这一领域还处在发展的初级阶段，必须充分重视其基础问题和关键技术的研究。应予优先资助的课题有：

1) 以改善现有性能或植入新性能为目标的一些重要天然蛋白质的改造研究。

2) 多肽和蛋白质分子的全新设计。

3) 以蛋白质为靶的药物设计和非药物模拟。

(5) 核酸的结构与功能的研究

核酸的结构与功能研究是当前国际上的大热点。无论是核酸的结构，还是核酸的生物功能方面，近年来都不断有新的发现和进展。分别研究核酸的结构与功能以及二者的关系将有助于阐明遗传信息的储存和基因表达调控的全过程，也有助于推动核酸的应用研究。我国在核酸的序列测定和 tRNA 结构与功能研究方面

有较好的研究基础, DNA 复制、核糖体结构功能等方面的工作也正在进行之中。为缩小国内研究与国际水平的差距, 国家可根据国内基础研究现状, 按一定的目标组织少数基础较好的实验室, 给以重点支持。应予优先资助的课题有:

- 1) tRNA 的结构与功能。
- 2) 核糖体结构与功能。
- 3) DNA 的复制。
- 4) RNA 的编译。
- 5) 酶活性 RNA 的结构与功能。
- 6) snRNA 的结构与功能。

(6) 反义核酸与酶活性 RNA 的应用研究

反义寡聚脱氧核糖核酸可以形成三螺旋结构方式结合在特定的双链 DNA 片段上阻止 DNA 的复制和转录。它也可以携带化学剪刀试剂到双螺旋 DNA 的特定位点降解 DNA。它还可与特定的 RNA 片段(如来源于病毒基因组 RNA、mRNA 或其前体)结合, 阻止 RNA 的反转录复制、mRNA 前体的剪接或 mRNA 的翻译等, 或借助核糖核酸酶 H 剪切杂交区段的 RNA 链等。酶活性 RNA 是反义核酸的一种, 它可以特异剪切某个 RNA 位点。因此两者均极有可能成为病毒基因和生物有害基因表达的专一性抑制剂。1992 年美国已将反义核酸用于临床实验, 估计很快可达到实用化。我们应抓住时机, 加强这方面的研究。应予优先资助的课题有:

- 1) 大规模、低成本合成反义核酸及 ribozyme 的方法。
 - 2) 在体内抗降解的反义核酸及 ribozyme 的修饰研究。
 - 3) 针对医、农、畜牧有关的危害较大的病毒, 进行反义核酸、
- 120 •

酶活性 RNA 最佳作用位点，最佳作用条件的研究。

5.2.2 酶学的研究

(1) 基础酶学的研究

我国对酶结构和功能的研究已有相当基础，如酶被修饰基团残余分数和残余活力分数之间的关系公式已被世界公认。3-磷酸甘油醛脱氢酶、肌酸激酶、蛇肌果糖 1, 6-二磷酸酶和胆碱脱氢酶等的研究均已达到相当高的水平。对氨酰 tRNA 合成酶的研究探索了蛋白质与核酸相互作用的新领域。这些方面都应继续深入，保持领先地位。随着 DNA 重组技术在我国逐渐普及，应加强酶学和基因工程工作者的合作，大力开展酶的分子克隆和酶工程的研究，引入定位突变等分子生物学技术。同时加强酶空间构象和功能关系的研究，充分利用现有的 X 射线衍射、核磁共振、圆二色仪等设备研究酶分子的拓扑学。如能和分子免疫学的研究相结合，在我国迅速填补抗体酶研究的空白，研究酶的定向设计，则能使我国基础酶学的研究更能接近或达到国际先进水平。至于在酶的选择上，应着重选择重要生命现象中的关键酶，例如核苷酸环化酶、G 蛋白 (GTP 酶)、各类磷脂酶和蛋白激酶，特别是一些国外尚未涉及或涉及不多的关键酶。把目前局限于代谢功能的研究上升到分子水平上酶结构和功能的研究，阐明它们的活性中心、一级结构、动力学、作用原理和空间构象，弄清其激活机理，如磷脂酶 C 的激活及其与磷脂酶 A₂ 的相互激活；丝氨酸蛋白激酶和酪氨酸蛋白激酶的相互影响、底物专一性，如磷脂酶和蛋白激酶，以及这些酶的调控机理，包括别构和修饰调节以及基因水平转录、mRNA 剪接和翻译调控等。

(2) 应用酶学

根据我国的具体情况，有必要将酶学研究的一部分力量安排在实际应用方面，以利获得一定的社会效益和经济效益。如结合危害我国人民健康最大的疾病肿瘤和心血管疾患的酶学研究，酶在诊断和治疗上的应用等。但应用酶学的研究必须在深入研究疾病发病机理的基础上，寻找在发病上起关键作用的酶，予以提纯并进行分子水平的研究，开拓新的诊断酶学标志。发展高灵敏度的酶学测定技术，如用于免疫定量的 RIA 或 ELISA，以提高测定的灵敏度和专一性，做出具有我国的特色的工作。同样在农业上，为解决 12 亿人口的吃饭问题，开展固氮和光合酶学的研究也是十分重要。但也必须在过去的基础上，研究基因调控，开展酶基因工程和酶基因转移等技术以改进品种。工业用酶在经济发展和国计民生中起重要的作用，也应予以适当重视，并加强工业用酶的应用基础研究，引进化学修饰，蛋白工程等技术以改善工业用酶的质量，开拓新的工业酶制剂的品种。

(3) 酶工程

继续开发高效、稳定而廉价的固相载体用于多酶体系的共固相及细胞的固相，并使之商品化。研究高效的固相技术，提高酶的稳定性、催化效率和使用寿命。进一步研究与代谢途径有关的多酶系统中各个酶以新的偶合方式的共固相化，创造新的代谢途径，以设计新的生产工艺；利用基因转移和细胞融合技术研制新细胞，以大量生产有经济价值的生物大分子和小分子生物制品。加强包括酶电极在内的新的生物传感器的研究，提高检测的灵敏度和简便性，扩大其在工农业和医学检验中的应用范围，为进一步

开拓生物芯片和生物电脑的研究打下基础。在应用研究方面,应该加强酶活性 RNA 在防治病毒病和抑制有害基因的表达工作,对象可以是与医、农、畜牧等有关的危害较大的病毒。

5.2.3 基因信息的表达、调控、传代等的机理

(1) 基因表达和调控的分子机理

不论是原核生物还是真核生物,基因表达和调控的分子机理研究,是一个共同的问题。基因表达和调控的实质是核酸-蛋白和蛋白-蛋白相互作用问题。在转录、转译和加工过程中,很多顺式元件和反式因子的作用不清楚。过去对结构蛋白或产物含量多的蛋白或酶的基因结构、表达和调控进行了研究,但对产物含量少的非结构蛋白的基因表达和调控,限于技术问题研究较少。现在用 PCR、基因工程等方法,可得到足构的基因和检测标记进行研究,如 CaMV 的 ORFV 的功能是编码反转录酶、ORFV1 编码病毒内含体等。今后应注重于测定蛋白质及蛋白质-核酸复合物的三维结构,用基因融合和基因定位诱变等技术,在原子水平上了解生物大分子结构和相互作用的机理。

(2) 基因工程的基础理论研究

1) 加强基因工程相关的基础研究和关键技术研究。我国从 70 代后期开始基因工程研究。多年来队伍不断壮大,水平提高较快,但从整体来看,仅处在跟踪水平,缺乏创新,没有摆脱以组装为主的状态。今后应加强基础和关键技术研究,研究重点应为基因表达调控、工程化宿主、翻译后加工、肽链折叠等。在关键技术方面除了基因体外操作和基因转移的实验室技术外,为促使基因工程技术的产业化,应加强中、下游技术研究,如包涵体后处理、

肽链再折叠、高密度培养技术等研究。

2) 扩展基因工程的研究和应用范围。我国基因工程应用研究主要集中在基因工程多肽药物和疫苗,今后应注意基因工程在改造传统发酵工业、环境保护等方面的应用。在表达系统的研究方面,目前基本上靠引进国外现有的系统,今后应强调与我国生物资源研究相结合,开发新的表达系统和新的目的基因,例如与极端环境的微生物研究相结合结合发展新的表达系统,与濒危、珍稀生物研究相结合开发新的目的基因。

3) 建立基因库和细胞库。我国研究用的基因、菌种、细胞株目前保存在各自实验室中,不仅花费大,而且常由于保管不善而污染、死亡。国外十分重视基因库和细胞库,美国、日本、欧洲均已建立了各种类型的基因库以及销售基因和细胞株的公司,促进和保证了基因工程和细胞工程研究的顺利进行。因此,必须尽快建立全国公用的基因库和细胞库。

5.2.4 具有调控作用的生物分子的化学及其受体的作用机理

激素、生长因子以及其他一些生物分子能调控物质代谢、基因表达、细胞生长等,对它们的化学特性和作用机理的研究,始终是一个十分活跃的前沿领域。其中包括:经典激素的分子水平研究;神经内分泌、胃肠内分泌、循环系统内分泌以及生长因子、生长抑制因子等活性多肽的结构与功能的研究;植物激素作用的分子机理研究。结合当前研究的发展趋势和我国的实际情况,在一段时间内可抓住下列主要研究方向和前沿课题,择优予以支持。

(1) 激素作用机理的研究

1) 肽类激素

受体的结构和功能研究: 确定受体蛋白的功能部位, 配体与受体相互作用的精细结构基础。

受体后信号转导机理的研究: 环核苷酸蛋白激酶途径, 磷脂酰肌醇途径, 酪氨酸蛋白激酶途径等。

激素与生长因子的细胞核内作用。

胰岛素作用机理研究: 胰岛素受体的磷酸化和脱磷酸化作用, 丝氨酸/苏氨酸蛋白质磷酸化在胰岛素作用中的意义, 第二信使的研究。

2) 固醇类激素

受体磷酸化和脱磷酸化的研究。

受体的结构和功能研究, DNA 结合区结构分析, 与激素应答元件的相互作用, 功能区与其他调节蛋白的相互作用。

固醇类激素对基因产物(生长因子、原癌基因产物等)的修饰、顺式作用元件、反式作用因子以及激素-受体复合物对基因转录和翻译过程的调节。

(2) 激素生长因子与癌基因关系的研究

1) 激素对原癌基因表达的调节。

2) 原癌基因在激素作用中的意义。

3) 生长因子的交互作用与生长因子的多功能性。

(3) 内分泌疾病的分子基础研究

(4) 生长因子与人类疾病的研究

包括肿瘤、动脉粥样硬化、肺纤维化、烧伤、骨折、各种溃疡的治疗，促进器官再生，促进造血过程，增强免疫等方面的医学基础研究。

(5) 植物激素的研究

1) 激素生物合成，代谢及其调控研究。

激素生物合成及其代谢过程中关键酶的生化及分子生物学研究。

关键酶在发育过程中变化及其调节因子的研究。

关键酶的基因工程。

2) 受体的研究。

植物组织对激素敏感性的分子基础及其调节因子的研究。

受体（结合蛋白）的生物化学与分子生物学研究。

受体基因工程。

3) 激素对基因表达的调节。

受体后信息传导的研究。

植物激素启动转录过程的分子机理。

同一细胞中，不同激素在基因表达同一步骤中的加和作用拮抗作用机理的研究；同一激素在同一类细胞中一定时间诱导活化某些基因而抑制另一些基因的机理的研究。

激素作用下表达产物与生理反应之间的关系。

4) 寻找新激素，合成生长调节剂及其应用。

5.2.5 生物分子的组装——生物膜的研究

(1) 膜脂与膜蛋白的相互作用

膜脂是膜的基本骨架，膜蛋白是膜功能的主要体现者，二者相互作用的本质是生物膜研究的一个重要环节。80年代我国生物膜研究有了较迅速的发展，其中很大一部分都与膜脂-膜蛋白相互作用密切相关，主要抓住了一些有特点的膜，如线粒体膜、叶绿体类囊体膜、嗜盐菌紫膜、红细胞膜、癌细胞膜以及神经细胞膜等。应用生物物理技术，如核磁共振、顺磁标记、荧光标记、差热扫描、冰冻蚀刻电镜、激光拉曼光谱、圆二色谱等研究膜脂、膜蛋白构象。今后的研究一方面要继续抓住这几个体系深入下去，一方面宜着重开展：

1) 膜脂流动性的研究，应该深入到膜脂分子的特定具体运动形式的速率与膜蛋白构象和活性的关系来进一步开展研究。

2) 非双层脂结构与生物膜的功能。

3) 多肽与膜脂的相互作用：主要是能自动横跨脂双层的多肽能和自动埋入双层的多肽的结构与功能的研究，包括信号肽、引肽、激素多肽、毒素多肽等。

4) 膜脂-膜蛋白相互作用与农作物抗性、细胞病变的关系以及药物的作用机理。

(2) 膜蛋白与膜蛋白的相互作用

膜蛋白之间的相互作用是生物膜表现功能的重要方面，这包括膜蛋白复合物亚基之间的相互作用与各个膜蛋白（或膜蛋白复合物）之间的相互作用。这种相互作用首先就要了解膜蛋白的结构及与膜的关系。分子生物学技术的发展与根据一级结构预测二

级结构的研究进展,使得对膜蛋白的了解大为深入。为了赶上国际研究水平,应注意以下几方面的研究:

1) 利用分子生物学手段,配合蛋白质化学分析,研究膜蛋白的一级结构,以及膜蛋白的基因克隆与表达。可以得到天然含量并不丰富的膜蛋白,进行膜蛋白结构与功能的研究。

2) 线粒体电子传递链、叶绿体类囊体光合电子链、F₀F₁ATP酶的研究。

3) 红细胞带 3 蛋白及与细胞内其他蛋白的相互作用。

4) 膜受体的研究。

(3) 物质传递是生物膜的基本功能,各种物质从离子、质子到蛋白质都有跨膜传送的问题

根据国内现有基础,应强调:

1) 离子的跨膜传送,包括 H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等重要生物活性离子。

2) 蛋白质的跨膜传送,包括传送前的解折叠机理、传送机理与传送后的重折机理等。

3) 内吞作用的分子机理。

(4) 跨膜信息传递

有不少生物活性物质,虽然不能跨膜进入细胞,但却与膜外侧的受体结合,通过跨膜信息传递的机理,调节细胞代谢。本文提到了腺苷环化酶、鸟苷环化酶、蛋白激酶 A、蛋白激酶 C、酪氨酸激酶等。在跨膜信息传递过程中,蛋白质的磷酸化与去磷酸化是一个重要环节。国内在胰岛素受体、蛋白激酶 C、腺苷环化酶等方面做过一些好的工作,还宜于进一步深入。特别是各个系统之

间互相还有交叉作用，非常复杂。此外，在癌基因的功能，一些生长因子的作用方面，也宜于加强。

(5) 脂质体的研究

脂质体对于研究蛋白与膜脂的作用，膜蛋白之间的作用，膜蛋白作为跨膜传送载体的作用机理、膜融合机理等都是十分有用的，而脂质本身有很高的实用价值。今后应主要开展：

1) 重组脂质体中蛋白质构象及其在功能过程中构象变化的研究。

2) 脂质体与细胞质膜或其他膜融合的机理。

3) 脂质体作为药物运载体及基因导入运载体。

4) 脂质体的组成与它在组织器官分布的关系。

5.2.6 跨学科的课题

一些学科目前已主要从分子的角度去研究，生物化学与分子生物学的理论和技术被广泛地运用于这些学科中，同时这些学科的成就又推动了生物化学与分子生物学的发展，分子病毒学、分子免疫学均是如此。

(1) 分子病毒学

我国从事病毒学研究的机构约有 200 多个；人员几千，但绝大多数分布在大中城市和省地两级卫生防疫系统，实际能够开展分子病毒学研究的单位和人员并不多，只有少数重点实验室和病毒基因工程的个别项目已接近或达到国际先进水平。因此，我国分子病毒学研究基础薄弱，空白领域很多，与国际先进水平有较大差距。分子病毒学是生物化学、生物物理学、细胞学、免疫学

等学科基础上发展起来的综合学科，它要求的基础知识和技术以及实验条件也就更宽更高更多，因此和生物化学与分子生物学的其他分支学科相比，它在发展中的问题也更加突出。根据我国的实际情况，分子病毒学的落后状况要在中近期发生根本变化并不现实，只能尽力加以改善，避免与先进国家的差距越来越大。为此，应选择与在我国流行的、危害严重的病毒病防治有关的、与发展高科技产业有关和对分子生物学的发展有重大意义的一些项目给予重点支持，同时对有创新和探索价值的一般课题也给予应有的照顾。根据上述原则建议考虑的前沿课题有：

1) 乙肝病毒基因组的复制，基因表达调控以及适于推广的新型基因工程疫苗研制。

2) 艾滋病毒的分子诊断技术与防治。

3) 杆状病毒基因的转录调控和载体表达系统的改进和开发。

4) 基因工程病毒疫苗，以痘苗病毒为载体的单价或多价重组活疫苗、甲型及丙型肝炎、流行性出血热、狂犬病、乙型脑炎、婴幼儿轮状病毒、畜用口蹄炎病毒疫苗等。

5) 人类肿瘤病毒的致癌机理、如乙肝、丙肝病毒与肝癌、EB病毒与鼻咽癌、人乳头瘤病毒与宫颈癌及其他上皮癌、HIV 与艾滋病等。

6) 植物病毒的分子病理学与抗病毒转移基因植物。

7) 腺病毒、流感病毒等的分子流行病学。

8) 抗病毒反义寡核苷酸药物的研制。

9) 典型慢病毒的分子病理学。

10) 反转录病毒载体和包装细胞的开发及其在转基因动物和基因治疗中的探索性应用。

11) 广谱高效的重组昆虫病毒杀虫剂。

12) 典型噬菌体的复制和包装机理。

(2) 分子免疫

1) MCV 的多态性以及和 T 细胞选择的关系。

我国人口众多,占世界人口的 1/5,中国人群的 HLA 是国际资料中的一大空白,这对了解国家人群和其他种群之间的关系和差异,免疫应答的特点以及它们和某些肿瘤以及自身免疫病的发病机理上的关系,新的 MHC 基因和分子的发现等都有重要意义,而且国内在这方面已有一定的基础。

MHC 和多态性:应用 PCR 产物的直接序列分析或 RFLP 等的分子生物学方法研究中国人群的 HLA 多肽性,包括 I 类分子、II 类分子和 III 类分子中有关补体的部分,发现新类型。应用同种异体特异顺序探针等方法,研究中国人群 HLA 多态性和自身免疫病、肿瘤、传染病、补体疾病的相关性,找出相关性的分子基础。

MHC 和细胞的分化和选择:研究 T 细胞在胸腺内分化过程中,MHC I 类、II 类分子、TCR 及其它细胞表面分子、细胞因子在正选择和负选择 T 细胞中的作用,分析造成 T 细胞自身耐受的机理。

2) 免疫系统的识别分子——免疫球蛋白和 T 细胞抗原受体。

免疫识别是免疫学的中心问题,抗体在应用上又有重大价值。国外近年发展很快,差距较大。但国内已建立相当的分子生物学和基因工程的基础,选择某些方面赶上国外发展是有可能的。

近期内可利用探针研究 Ig 基因和 TCR 基因及其调控和某些肿瘤及自身免疫病之间的关系,并为临床和疾病分类提供依据。

开展抗体应答免疫记忆分子机理的研究,包括 T 细胞及其因

子在其间的作用,高突变发生的机理,以及维持免疫记忆的机理。建立库克隆化技术,开展各类基因工程抗体的研究以获得各种新型抗体,包括人用抗体在内。

3) 补体方面。

国内在补体活化的分子机理方面已有一定的工作基础。在补体研究中活化机理占有十分重要的地位,因为补体活化以及引起的炎症和大多数人类病相关,而解决补体引起的炎症关键在于活化的控制。

研究补体系统中各分子的结构和功能,它们在活化过程中的变化和作用机理。

研究血浆中的调节蛋白及膜相关分子在活化和炎症过程中的调节作用,进行调节蛋白的基因工程和蛋白质工程改建的研究,以用于控制补体活化和炎症的基础和应用性研究。

4) 细胞因子方面。

结合细胞因子网络的观点,从分子水平上研究细胞因子在免疫细胞生长分化、免疫应答的各环节中,以及疾病发生发展过程中的诱生和调节作用,研究一种分子起多种作用及多种分子起一种作用的分子基础。

研究细胞因子受体的结构和功能,包括受体基因克隆的建立或引进,受体和因作用后信息在胞内的传递,以及可能导致的一系列基因活性激活过程,研究可溶性受体的调节作用。

发现并分离新的细胞因子,建立基因克隆,进行分析鉴定。

6

战略措施与政策建议

1) 在国家现有财力条件下,自然科学基金额度不可能有大幅度的增长,然而基础研究急需扶持与发展,这就需要有正确的战略措施与政策。生物化学与分子生物学是当代生物学发展最迅速并且最有活力的一个分支,起着带头学科的作用。生物学的各个其他分支都需要运用生物化学与分子生物学的概念和方法技术。化学、物理学以及数学、计算科学中的理论和技术也都在向它渗透。它的发展还促进了生物技术的发展。因此,必须对生物化学与分子生物学给予足够的重视并在经费上给予重点支持。

2) 抓住国际前沿课题,组织协作,在明确的目标与阶段目标下,稳定地支持一段较长的

时期。胰岛素人工合成花了 6—7 年，酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工合成花了 13 年，没有坚持的努力，稳定的支持，是不可能具有如此巨大的成果的。一个大项目必须要能分解成有意义的子课题，子课题之间必须有有机的联系。当年胰岛素的合成分为：AB 链的拆合、A 链 21 肽合成、B 链 30 肽合成，是个很好的范例。目前国内也有一些重大项目或重点项目，但不少仅是大口袋，子课题之间没有联系，有的甚至系统与对象也不同，只不过是把分散的课题归类合并，而不是把一个项目分解以求不断提高最终完成。

3) 大项目一定要发挥牵头单位的积极性与责任性，要尽量减少报表而组织真正的交流。牵头单位必须有责有权而对基金委负责，起到检查督促的作用。选择大项目时必须考虑到先进性、可行性。要避免过分依赖大型仪器的课题，但要保证常规仪器设备的先进性，协作单位必须是互补型的。对成果的评价，对有关单位与个人的贡献的评估要有科学态度，实事求是。

4) 基金委通过几年来的实践已对有关院校和研究所实验室的水平、作风有比较深入的了解，应在这个基础上采取分级管理，依此委托他们承担不同大小及水平的课题。

5) 凡事有所不为才能有所为，一个杰出的成果顶得上千百个一般性的成果。因此，在经费上要对大项目切实增加投资强度，不要以为支持项目多就是成绩，当然面上也要有所照顾。今后从国外学习回国的人员会逐渐增多，原则上他们的初始运转费用应由所在单位负责，以后再提出申请择优支持。

6) 大力加强国际合作，在联合课题上多下功夫，尽量争取与国外基金会有联合研究方向，共同支持联合研究。对于一般性的访问与国际会议则宜从严掌握。有的课题例如基因组的研究，如果基金委与国外有关单位谈判，以国外资助 1 美元、基金委资助

1 元人民币的比值来开展工作，则对我国基础研究的开展与活跃是十分有利的。

7)对于一般性的课题要求做到相近的课题尽量采用不同系统(或对象)。支持一些课题从不角度来研究，也会使整体水平有个飞跃。基金委应在宏观上加以协调，而不是单纯接受申请与讨论申请。

参考文献

- 马海官, 生物科学信息, 1990, 2, 1, 10.
- 王玉环、吴国利, 生物化学与生物物理进展, 1991, 18, 2, 91.
- 王德宝, 生物化学与生物物理学报, 1991, 23, 95.
- 朱关福, 病毒学报, 1989, 5, 89.
- 阮力等, 病毒学报, 1989, 5, 96.
- 吴国利, 生物科学信息, 1991, 3, 4, 9.
- 杨胜利, 国外医学 分子生物学手册, 1991, 13, 6, 262.
- 郑志明, 病毒致病的分子病理学研究, 卫生部第六期“走向世界”报告资料, 1989.
- 金由辛、刘望夷, 核酸一级结构测定方法的发展, 载于惠永正、陈耀先主编, 生命化学进展, 化学工业出版社, 1992.
- 候云德, 生物工程进展, 1991, 6, 1.
- 候云德, 分子病毒学, 1990, 学苑出版社.
- 施建平, 前进中的生物化学论文集, 中国科学技术出版社, 1987, 203.
- 高久史磨, 蛋白质核酸酵素, 1991, 36, 7, 1406.
- 清水信义, 蛋白质核酸酵素, 1991, 36, 7, 9771.
- 谈曼琪, 生物工程学报, 1988, 4, 87.
- 秦浚川等, 国外医学 分子生物学分册, 1990, 12, 165.
- 戚正武, 生物科学信息, 1991, 3, 4.
- 童坦君, 生物科学信息, 1991, 3, 4, 6.

潘国宗, 生理科学进展, 1988, 20, 444.

Accolla, R. S. et al., The molecular biology of MHC genes, Immunol. Today, 1991, 12, 97.

Albright, L. M. et al., Ann. Rev. Microbio., 1989, 53, 450.

Alper, J., Science, 1990, 247, 804.

Amit, A. G. et al., Science, 1987, 233, 747.

Anderson, A. J., Plant-Microbe Interaction, Molecular and Genetic Perspectives. Vol. 3, 87, eds Kosuge T Nester E. W., McGrawHill Publishing Company, New York, 1989.

Arai, K. et al., Ann. Rev. Biochem., 1990, 59, 783.

Baldwin, E. T. et al., Crystal structure of IL-8; symbiosis of NMR and crystallography, PNAS, 1991, 88, 502.

Balkwill, F. R. & Burke, F., The cytokine network, Immunol. Today, 1989, 10, 299.

Bauman, G. et al., EMBO J., 1989, 1161.

Beebe, T. P. et al., Science, 1989, 243, 370.

Belcourt, M. F. et al., Cell, 1990, 62, 339.

Benoist, C. & Mathis, D., Regulation of MHC class I genes, Ann. Rev. Immunol., 1990, 8, 681.

Berg, J. M., Ann. Rev. Biophys. Chem., 1990, 19, 405.

Bialy, H., Transgenic pharming comes of Age., Biotechnology, 1991, 9, 786.

Bjorkman, P. J. et al., Nature, 1987, 329, 506.

Bourret, R. B. et al., Ann. Biochem., 1991, 60, 401.

Brennan, R. G. & Matthews, B. W., TIBS, 1989, 7, 286.

Buratowski, S. et al., Cell, 1989, 56, 549.

Burgoyne, R. D., TIBS, 1989, 14, 394.

Burton, D. R., Human and mouse monoclonal antibodies by repertoire cloning, TIBTECH, 1991, 9, 169.

Capon, D. J. et al., Nature, 1989, 337, 525.

Carraway, K. L. & Hull, S. R., Cell surface mucin type glycoproteins and mucin-

- like domains, *Glycobiology*, 1991, 1, 131.
- Carter, M. S. & Drause, J. E., *J. Neuroscience*, 1990, 10, 2203.
- Carter, A. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 7266.
- Cech, T. R., *Cell*, 1991, 64, 667.
- Chabre, M., *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, 1985, 14, 331.
- Chabrier, P. E. & Braquet, P. *Horm. Res.*, 1990, 34, 169.
- Chen, Z. et al., *Science*, 1989, 245, 154.
- Chen, Z-L et al., *EMBO J.*, 1988, 7, 297.
- Chen, Z-L et al., *Dev. Genet.*, 1989, 10, 112.
- Chinkers, M. & Garbers, D. L., *Science*, 1989, 245, 1392.
- Chizzonite, R. et al., IL-12: monoclonal antibodies specific for the 40 KDa subunit block receptor binding and biologic activity on activated human lymphoblasts, *J. Immunol.*, 1991, 147, 1548.
- Chothia, C., *Ann. Rev. Biochem.*, 1990, 59, 1007.
- Cox, D. R. et al., *Science*, 1990, 250, 245.
- Dahlberg, A. E., *Cell*, 1989, 57, 525.
- Dalbaldie-McFarland, G. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, 79, 6409.
- David, L. Garbers, Guanylate cyclase, a cell surface receptor, *J. Biol Chem.*, 1989, 264, 9103.
- Davis, M. M. & Bjorkman P. J., T cell antigen receptor genes and T cell recognition, *Nature*, 1988, 334, 395.
- Defranco, A. L., Beteen B cells and T cells, *Nature*, 1991, 351, 603.
- DeGrado, W. F. et al., *Science*, 1989, 243, 622.
- Deisenhofer, J. et al., *Nature*, 1985, 318, 618.
- Deisenhofer, J. & Michel, H., *Science*, 1989, 245, 1463.
- Dell, A., F. a. b. -mass spectrometry of carbohydrates, *Adv. Carb. Chem. Biochem.*, 1987, 45, 20.
- Diener, T. O., *The Viroids*, Plenum Press, 1987.
- Dohlmun, H. G., *Ann. Rev. Biochem.*, 1991, 69, 653.
- Dolittle, R. F., *Ann. Rev. Biochem.*, 1984, 53, 195.

- Douce, R. et al. , *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* , 1989, 40, 371.
- Doudna, J. A. & Szostak, J. W. , *Nature*, 1989, 339, 5197.
- Dower, S. K. et al. , *Human cytokine receptor*, *J. Clin. Immunol.* , 1990, 10, 289.
- Driscoll, P. C. et al. , *Biochemistry*, 1989, 28, 2188.
- Dreyer, M. et al. , *TIPS*, 1988, 9, 98.
- Dujon, B. , *Gene*, 1989, 82, 91.
- Dumont, J. E. et al. , *TIBS*, 1989, 14, 67.
- Dumont, J. E. , *TIBS*, 1989, 14, 67.
- Durum, S. K. et al. , *New cytokines and receptors (7th International Lymphokine Workshop, Oct. '90)*, *Immunol. Today*, 1991, 12, 54.
- D. V. Goeddel ed. , *Gene expression technology, Methods in Enzymology 1990*, 185.
- Eisenberg, D. & Hill, C. P. , *TIBS*, 1989, 14, 260.
- Elbin, A. D. , *Glycosidase inhibitors of N-linked oligosaccharides processing*, *FASEB J.* , 1991, 5, 3055.
- Ellis, R. J. et al. , *Ann. Rev. Biochem.* , 1991, 60, 321.
- Erlich, H. A. ed. , *PCR Technology*, Stockton Press, 1989.
- Espinel, J. , *Nature*, 1987, 328, 574.
- Esser, C. & Rabbruch, A. , *Immunoglobulin class switching*, *Ann. Rev. Immunol.* , 1990, 8, 717.
- Evans, R. M. et al. , *Cell*, 1988, 52, 1.
- Fasman, G. D. , *TIBS*, 1989, 14, 295.
- Fesik, S. W. et al. , *Biochemistry*, 1988, 27, 8297.
- Finkelman, F. D. et al. , *Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection*, *Ann. Rev. Immunol.* , 1990, 8, 303.
- Fischer, E. H. et al. , *Science*, 1991, 253, 401.
- Fluhr, R. et al. , *Science*, 1986, 232, 1106.
- Forster, A. C. & Symons R. H. , *Cell*, 1987, 49, 211.
- Fraaenkel-Conrat, H. et al. , *Virology* 2nd ed. , Prentice Hall 1988.
- Franz-Ulrich Hartl et al. , *Mitochondrial protein import*. *BBA*, 1989, 988, 1.
- Ganem, D. et al. , *Ann. Rev. Biochem.* , 1987, 56, 651.

- George, F. et al. , Bioessays, 1991, 13, 2, 73.
- Gerald Fasman, et al. , The Prediction of transmembrane protein sequences and their conformation: an evaluation, TIBS, 1990, 15, 89.
- Gierl, A. et al. , Nucleic Acids and Molecular Biol. , eds. F. Eckstein, D. M. J. Lilley, H. Eidelbberg, Springer, 1989.
- Gill, G. et al. , PNAS, 1990, 87, 2127.
- Gillies, S. D. et al. , Expression of genetically engineered immunoconjugates of lymphotoxin and a chimeric antiganglioside GD2 antibody, Hybridoma, 10, 347.
- Goodman, M. F. , Ann. Rev. Biochem. , 1991, 60, 477.
- Green, P. J. et al. , EMBO J. , 1988, 7, 4035.
- Greider, C. et al. , Nature, 1989, 337, 331.
- Gshwendt, M. et al. , TIBS, 1991, 16, 167.
- Gutmen, A et al. , Trends Genet. , 1991, 7, 2, 49.
- Hajdu, J. et al. , Nature, 1987, 329, 178.
- Hakomori, S. , J. Biol. Chem. , 1990, 265, 18703.
- Hames, B. D. & Glover, D. M. , Molecular Immunology, IRL Press Limited, 1988.
- Hardie, D. G. , TIBS, 1989, 14, 20.
- Harrison, S. C. , Nature, 1991, 353, 715.
- Harvey, A. L. & Anderson, A. J. , Pharmac. Ther. , 1985, 31, 33.
- Hawke, D. H. et al. , Methods in Protein Sequence Analysis, Birkhsuser Verlag, 1990, 35.
- Hera, D. L. et al. , Structure of the T cell antigen receptor, J. Exp. Med. , 1991, 173, 7.
- Herman, R. C. , TIBS, 1989, 14, 219.
- Holdsworth, M. J. et al. , Planta, 1989, 179, 17.
- Hombach, J. et al. , Molecular componets of the B cell antigen receptor complex of IgM class, Nature, 1990, 343, 760.
- Honnlodji, C. et al. , Biochemistry, 1987, 26, 5433.
- H. Ti Tien, Formation of self-assembled lipid bilayers on solid substrates, Bioelectrochem & Bioenergetics, 1989, 22, 211.

- Hunter, T. & Cooper, J. A. , *Ann. Rev. Biochem.* , 1985, 54, 897.
- Hunter, T. , *Cell*, 1987, 50, 823.
- Hunter, T. , *Cell*, 1989, 58, 1013.
- Hynes, R. O. , in " *Fibronectins*" , New York Springer, 1990, 114.
- Inglis, A. S. et al. , *Methods in Protein Sequence Analysis*, 1990, 137.
- Inouye, S. et al. , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, 79, 3438.
- Jing Y. , *Scientia Sinica B.* , 1986, 29, 50.
- Jing Y. et al. , *Science in China*, 1990, 33, 1078.
- Johnson, P. F. & McKnight, S. L. , *Ann. Rev. Biochem.* , 1989, 58, 799.
- Johnston, S. A. , Biolistic transformation; microbes to mice, *Nature*, 1990, 346, 776.
- Kadonaga, J. T. et al. , *Cell*, 1987, 51, 1079.
- Karlsson, L. et al. , A novel class II MHC molecules with unusual tissue distribution, *Nature*, 1991, 351, 485.
- Kapteina, R. et al. , *J. Mol. Biol.* , 1985, 182, 179.
- Kay, S. A. et al. , *Plant Cell*, 1989, 1, 351.
- Kemp, B. E. & Pearson, R. B. , *TIBS*, 1990, 15, 342.
- Khorana, H. G. , Bacteriorhodopsin, a membrane protein that uses light to translocate protons, *J. Biol. Chem.* , 1988, 263, 7439.
- Kim, P. S. & Baldwin, R. L. , *Ann. Rev. Biochem.* , 1990, 59, 631.
- Kim, P. S. , *Protein Engineering*, 1988, 2, 249.
- Kjellen, L. & Lindahl, U. , *Proteoglycans: structure and interactions*, *Annu. Rev. Biochem.* , 1991, 60, 443.
- Kline, A. D. et al. , *J. Mol. Biol.* , 1988, 204, 675.
- Kondorosi, A. , *Plant-Microbe Interaction, Molecular and Genetic Perspectives*, Vol. 3, 381, eds. Kosuge T. , Nester E. W. , McGraw-Hill Publishing Company, New York, 1989.
- Koning, F. , Lymphocyte antigen receptor; a common design, *Immunology Today*, 1991, 12, 100.
- Koning, F. et al. , The implications of subunit interactions for the structure of the T cell receptor-CD3 complex, *Eur. J. Immunol.* , 1990, 20, 299.

- Kornberg, A. , J. Biol. Chem. , 1988, 263, 1.
- K. Takeyasu et al. , Expression of hybrid (Na^+K^+)-ATPase molecule after transfection of mouse Lt' K Cells with DNA encoding the β -subunit of an avian brain sodium pump, J. Biol. Chem. , 1987, 262, 10733.
- Kublemeyer, C. et al. , PNAS, 1988, 85, 4662.
- Landschulz, W. H. et al. , Science, 1988, 240, 1759.
- Leatherbarrow, R. J. & Fersht, A. R. , Protein Engineering, 1986, 1, 7.
- Lewin, B. , Gene IV, 672, Oxford University Press, 1990.
- Lis, H. & Sharon, N. , Lectins as molecules and as tools, Ann. Rev. Biochem. , 1986, 55, 35.
- Luckow, V. A. et al. , Bio/Technology 1988, 6, 47.
- Masamitsu Futai et al. ATP synthase (H^+ -ATPase); Results by combined biochemical and molecular biological approaches, Ann. Rev. Biochem. , 1989, 58, 111.
- Masu, Y. et al. , Nature, 1987, 329, 836.
- Melchers, L. et al. , Plant Mol. Cell. Biol. , 1988, 4, 167.
- Mermod, N. et al. , Cell, 1989, 58, 741.
- Michael P. Czech et al. , Insulin receptor signaling. Activation of multiple serine kinases, J. Biol. Chem. , 1988, 263, 11017.
- Michael, G. H. et al. , Plant-Microbe Interaction, Molecular and Genetic Perspectives, vol. 3, 131, eds. Kosuge T. , Nester F. W. , McGrawHill publishing Company, New York, 1989.
- Michel, F. et al. , Gene, 1989, 82, 5.
- Miller, J. et al. , EMBO J. 1985, 4, 1609.
- Mitchell, P. J. et al. , Science, 1989, 245, 371.
- Mitraki, A. & King J. , Protein folding intermediates and inclusion bodyformation, Biotechnology, 1989, 7, 690.
- Muramatsu, T. et al. , Nature, 1988, 336, 179.
- Murdock, F. E. & Gorski, J. , Mol. Cellular Endocrin, 1991, 78, 103.
- Murre, C. et al. , Cell, 1987, 56, 777.
- Murphy, P. M. & Tiffany H. L. , Cloning of cDNA encoding of a functional human

- IL-8 receptor, *Science*, 1991, 253, 1280.
- Nagy, F. et al., *EMBO J.* 1987, 6, 2537.
- Nikolaus Pfanner, Mitochondrial import receptors for precursor proteins *TIBS*, 1991, 16, 63.
- Nishizuka, Y., *Nature*, 1988, 334, 661.
- Noguchi, T. et al., *J. Biol. Chem.*, 1986, 261, 13807.
- Noller, H. F. et al., in "Structure, Function and Genetics of Ribosome", eds. Hardesty, B. and Kramer, G., Springer-Verlag, New York, 1986, 143.
- Noren, C. J. et al., *Science*, 1989, 244, 182.
- O'Brien et al., *Biochem. J.*, 1991, 278, 609.
- Ogilvic, K. K. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 5764.
- Olson, M. V. et al., *Science*, 1989, 245, 1434.
- Osawa, T. & Tsuji, T., Fractionation and structural assessment of oligosaccharides and glycopeptides by use of immobilized lectins, *Ann. Rev. Biochem.*, 1987, 56, 21.
- Oschkinat, H. et al., *Nature*, 1988, 332, 374.
- Ostermann, J., The function of chaperones during intra cellular proteinsorting, folding and assembly, *Biotechnology Genetic Engineering Review*, 1990, 8, 219.
- Pacher, P. J. et al., *Science*, 1986, 233, 853.
- Parham, P., Oh to be twenty-seven again, *Nature*, 1991, 351, 523.
- Parham, P., Half of a peptide pump, *Nature*, 1991, 351, 271.
- Parry, H. D. et al., *TIBS*, 1989, 14, 15.
- Pawson, T., *Trends Genet.*, 1991, 7, 343.
- Pease, L. R. et al., Structure and diversity of class I antigenpresenting molecular in the mouse, *CRC Rev. Immunol.*, 1991, 11, 12.
- Pelch, S. L. & Vance, D. E., *TIBS*, 1989, 14, 28.
- PERsing, D. H. et al., *The Yale J. Biol. Med.* 1989, 62, 159.
- Peter Kurt Schmidli et al., *JACS*, 1991, 113, 8127.
- Peters, P. J. et al., *Nature*, 349, 669.
- Peterson, P. A., *CRC Crit Rev., Plant Sci.*, 1987, 6, 105.

- Poulson, C. et al. , Gene Dev. , 1988, 2, 376.
- Powell, A. P. et al. , Science, 1986, 232, 738.
- Protein Data Bank Newsletter, 1991, No. 58.
- Prusoff W. H. et al. , In Anti-viral Drug Development, A mult: disciplinary Approach
ed. by De Clerq E. et al. 173, Plenum Press, NY, 1988.
- Rademachen, T. W. et al. , Ann. Rev. Biochem. , 1988, 57, 755.
- Rana, R. S. et al. , Physiol. Rev. 1990, 70, 115.
- Richard, A. H. , Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, 82, 5131.
- Richardson, J. S. & Richardson, D. C. , TIBS, 1989, 14, 304.
- Rolink, A. & Melchers, F. , Molecular and cellular origins of B lymphocytediversity,
Cell, 1991, 66, 1081.
- Rosen, O. M. , Science, 1987, 237, 1452.
- Ross, R. et al. , Tran. Roy. Soc. (London), 1990, B237, 155.
- Rossmann, M. G. et al. , Nature, 1985, 317, 145.
- Rould, M. A. et al. , Science, 1989, 246, 1135.
- Ruoslahti, E. , Ann. Rev. Biochem. , 1988, 57, 375.
- Rudensky, A. Y. et al. , Sequence analysis of peptides bound to MHC class I
molecules, Nature, 1991, 353, 622.
- Russell, W. C. et al. (eds), Molecular Basis of Viruse Disease, Cambridge University
Press 1987.
- Sagi-Eisenbery, R. , TIBS, 1989, 14, 355.
- Saito, H. et al. , Cell Growth and Differentiation, 1991, 2, 59.
- Saltiel, A. R. , J. Bioeng. Biomemb, 1991, 23, 29.
- Saltzman, A. G. et al. , FASEB J. , 1989, 3, 1723.
- Sampson, J. R. & Uhlenbeck, O. C. , PNAS, 1988, 85, 1033.
- Sanchez, F. et al. , Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. , 1991, 42, 507.
- Saragon, H. U. & Green M. I. , Design and synthesis of a mimetic from an antibody
CDR, Science, 1991, 253, 792.
- Sarver, N. et al. , Science, 1990, 247, 1222.
- Schlichting, I. et al. , Nature, 1990, 345, 309.

- Schneider, R. J. *Ann. Rev. Biochem.*, 1987, 56, 317.
- Schutz, P. G., *Science*, 1988, 240, 426.
- Scott, M. P. et al., *BBA*, 1989, 989, 25.
- Sergio Papa, The $F^0F^1H^+$ - ATP synthase of mitochondria, *Organelles in Eukaryotic Cells*, eds. Joseph M. Tager et al., Plenum Publishing Co., 1989, 9.
- Sharp, P. A., *Science*, 1987, 235, 766.
- Shirayoshi, Y. et al., IFN-induced transcription of a major histocompatibility class I gene accompanies binding of inducible nuclear factors to the interferon consensus sequence, *PNAS*, 1988, 85, 5884.
- Shively, J. E. et al., *TIBS*, 1989, 14, 246.
- Simpson, J. et al., *Nature*, 1986, 323, 551.
- Smith, S. O. & Griffin, R. G., *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 1988, 39, 511.
- Smith, T. J. et al., *Science*, 1986, 233, 1286.
- Spies, T. & DeMars, R., Restored expression of major histocompatibility class I molecules by gene transfer of a putative peptide transporter, *Nature*, 1991, 351, 323.
- Springer, T. A., Adhesion receptors of the immune system, *Nature*, 1990, 346, 425.
- Stanfield, R. L. et al., *Science*, 1990, 248, 712.
- Staudt, L. M., Immunoglobulin gene transcription *Ann. Rev. Immunol.*, 1991, 9, 373.
- Steinhauer, D. A. et al., *Ann. Rev. Microbiol.*, 1987, 41, 409.
- Stephen, J. C. et al., *Science*, 1990, 250, 237.
- Stephen, P. A. et al., *Science*, 1991, 251, 767.
- Stougaard, J. et al., *EMBO J.*, 1987, 6, 3566.
- Stock, J. B. et al., *Microbiol. Rev.*, 1989, 53, 450.
- Stockhaus, J. et al., *PNAS*, 1987, 84, 7943.
- Strittmatter, G. et al., *PNAS*, 1987, 84, 8986.
- Struhl, K., *TIBS*, 1989, 7, 137.
- Stuart, K., *Gene*, 1989, 82, 155.
- Srirastava, A. K., *Intern. J. Biochem*, 1990, 22, 1229.

- Takahash, K. et al. , Nature, 1986, 319, 121.
- Taussig M. J. , Molecular genetics of immunoglobulins, Immunol. Suppl, 1988, 1, 7.
- Taylor, W. C. , Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. , 1989, 40, 211.
- Tepfer, D. , Plant-Microbe Interaction, Molecular and Genetic Perspectives, vol. 3, 294, eds. Kosuge T. , Nester E. W. McGraw-Hill Publishin Company, New York, 1989.
- The biology of complement, Immunol Today, 1991, 12, 291.
- Thompson, W. F. , Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bio. , 1991, 42, 423.
- Timko, M. P. et al. , Nature, 1985, 318, 579.
- Tomiya, N. et al. , Analysis of N-linked oligosaccharides using a two dimensional mapping technique, Anal. Biochem. , 1988, 171, 73.
- Tonks, N. K. , TIBS, 1989, 14, 67.
- Tooze, J. et al. , Molecular Biology of Tumor Viruses, 2nd ed. revised DNA Tumor viruse, Cold Spring HarborNY 1981.
- Townsend, R. R. & Hardy, M. R. , Analysis of glycoprotein oligosaccharides using high pH anion exchange chromatography, Glycobiology, 1991, 1, 139.
- Trakanov, S. D. et al. , FEBS Lett. , 1987, 220, 319.
- Tramontano, A. et al. , Science, 1986, 234, 1566.
- Travers, A. A. , Ann. Rev. Biochem. , 1989, 58, 427.
- Traver, C. N. et al. , PNAS, 1989, 86, 5898.
- Tuddenham, E. G. D. , Nucleic Acids Res. , 1991, 19, 4821.
- Tumer, N. E. et al. , EMBO J. , 1987, 6, 1181.
- Uhlmann, E. & Peyman, A. , Chemical Reviews, 4, 543.
- Ullrich, A. et al. , Cell, 1991, 61, 203.
- Ulmer, K. M. , Science, 1983, 219, 666.
- Understanding our genetic inheritance, the US human genome project. the First-Five Year FY, 1991-1995, U. S. Dept. of Health and Human Service, U. S. Dept. of Energ, 1990, 43.
- Vierling, E. , Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bio. , 1991, 42, 579.

- Vinik, A. et al. , Horm. Metab. Res. 1991, 20, 1.
- Wagner, G. et al. , J. Mol. Biol. , 1987, 196, 611.
- Wallace, D. C. , Trends in Genetics, 1989, 5, 9.
- Watanabe, K. & Funatsu, G. , Agr. Biol. Chem. 1988, 52, 1067.
- Watson, J. D. et al. , Molecular Biology of the Gene, 4th ed. , 661; 936, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. , 1987.
- Weismen, H. F. et al. ; Soluble human complement receptor Type 1 ; in vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation are necrosis, Science, 1990, 249, 146.
- Weiss, R. et al. , Mol. Biol. of Tumor Viruses, 2nd ed, RNA Tumor Viruses Cold Spring Harbor, NY 1984.
- Wells, J. A. & Estell, D. A. , TIBS, 1988, 13, 291.
- White, M. F. , J. Bioeng. Biomemb, 1991, 23, 63.
- WHO Committee for Factors of the HLA System, 1991.
- Williams, D. A. et al. , PNAS, 1986, 83, 2566.
- William E Balch, Biochemistry of interorganelle transport. A new frontier in enzymology emerges from versatile in vitro model systems, J. Biol. Chem. , 1989, 264, 16965.
- Winter, G. et al. , Nature, 1982, 299, 756.
- Wright, P. , TIBS, 1989, 7, 25.
- W. Sturmer, et al. , Charge translocation by the $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ pump: II ion binding and release at the extracellular face, J. Membr. Biol. , 1991, 121, 163.
- Yanagisawa, M. et al. , Nature, 1988, 332, 411.
- Yarden, Y. , Ann. Rev. Biochem. , 1988, 57, 443.
- Yonath, A. & Wittmann, G. , TIBS, 1989, 8, 339.
- Zang, A. J. & Cech T. R. , Science , 1986, 231, 470.
- Zhen Zhu et al. , Cationic Liposome-Mediated Transformation of Rice Protoplasts Focus, 1990, 12, 41.



S0014738

收到期	96.8.20
来源	西单书
书价	13.50
单据号	0042601
开票日期	96.7.15

26504

58.173
287

生物化学与分子生物学

1995年

借者	还期	借者	还期
6.8.2	12.12.3		
	12.12.4		

58.173
287

注 意

- 1 借书到期请即送还,
- 2 请勿在书上批改圈点, 折角。
- 3 借去图书如有污损遗失等情形须照章赔偿。

26504

京卡 0701

ISBN 7-03-004804-0

Q · 594

定 价： 13.50 元